RENLEI
YICHUAN YU YOUSHENG

人类遗传与优生（第二版）

丁显平／主编

四川大学出版社

封面设计 墨创 H.C CULTURE

RENLEI
YICHUAN YU YOUSHENG

人类遗传与优生

（第二版）

ISBN 978-7-5614-5436-7
9 787561 454367 >

定价：32.00元

RENLEI
YICHUAN YU YOUSHENG

人类遗传与优生

（第二版）

丁显平／主编

四川大学出版社

特约编辑：李成华
责任编辑：李晓静
责任校对：毕　潜
封面设计：墨创文化
责任印制：李　平

图书在版编目(CIP)数据

人类遗传与优生 / 丁显平主编. —2 版. —成都：四川大学出版社，2011.8
ISBN 978-7-5614-5436-7

Ⅰ.①人… Ⅱ.①丁… Ⅲ.①人类遗传学—高等学校—教材②优生学—高等学校—教材 Ⅳ.①Q987

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2011）第 169319 号

书名　人类遗传与优生（第二版）

主　　编　丁显平
出　　版　四川大学出版社
地　　址　成都市一环路南一段 24 号（610065）
发　　行　四川大学出版社
书　　号　ISBN 978-7-5614-5436-7
印　　刷　成都蜀通印务有限责任公司
成品尺寸　185 mm×260 mm
印　　张　15.75
字　　数　397 千字
版　　次　2011 年 8 月第 1 版
印　　次　2011 年 8 月第 1 次印刷
印　　数　0 001～2 000 册
定　　价　32.00 元

◆读者邮购本书，请与本社发行科联系。电 话：85408408/85401670/85408023　邮政编码：610065
◆本社图书如有印装质量问题，请寄回出版社调换。
◆网址：www.scupress.com.cn

版权所有◆侵权必究

第一版弁言

遗传与优生、先天与后天、优生与优育，三者为天、地、人之大事，“不可不察”。旷理今日时空，科学无所不在，社会无时不变，生活日新月异，人口与生育“生生不息”，生老病死人人相系，以上诸端无不影响着个人健康、家庭幸福、国家富强和民族兴旺。今辈莘莘学子和社会学人，不谙“遗传与优生”断不能适应今日之社会和人生。

四川大学生命科学学院，据教育之需要，率先主持编写高等学校公共选修课教材《人类遗传与优生》，作为各有关专业大学生的学习资料，非常必要、非常有益。它既可洞察生命科学之奥秘，又可普及健康婚育之基础知识，实为独具慧眼之举。

编者丁显平教授，多年从事遗传与优生学的教学、科研与临床实践。他思想睿智，与时俱行、勇于攀登，且贴近学子；既能深入本专业科学高端，又善科普教育。因此所编内容，深入浅出，图文并茂，运用于今日大学生和有关社会学人学习之用。

由于此教材和教学为新试，不当、不全之处在所难免，望在教学实践中逐步完善，以应发展之需要。

丁教授在杀青之后出示之，并索序于我，却之不恭乐为玉成。

李崇高　于京西

2004 年 12 月 1 日

第一版前言

自古以来，人类一直在探索自身的奥秘，人的生、老、病、死，以及意识和行为等都是人们希望明白的奥秘。20世纪50年代以来，分子生物学及其技术的飞速发展，特别是随着人类基因组研究计划的顺利实施和完成以及后基因组计划的开始，展示人类生命活动的智力、行为、身体素质等现象都能从基因这个层面上找到答案，人类自身的奥秘不断被揭示出来，人们对优生的认识达到空前的高度，从而也引起了更多的人对遗传和优生的关注和兴趣。

早在十多年前，国内部分高校就开设了“人类遗传学”或相关的课程，以满足生物类和非生物类专业的学生对这方面知识的强烈兴趣。随着“计划生育、优生优育”工作作为基本国策提上日程，大约在6年前，我们就将“人类遗传与优生”这门课程作为四川省计划生育和卫生系统妇产科高级医师培训班的必修课程。该课程受到广大医务人员的欢迎。这使我们认识到，专业医务人员对这方面的知识的补充非常必要；同时也使我们意识到，要进一步搞好优生，提高全民族的素质，仅仅给专业医务人员补充这些知识是不够的，要向全社会关心优生的人们尤其是大、中专学校的青年学生全面普及这方面的知识，才是进一步搞好优生、提高人口素质的重要出路。

本书介绍了人类遗传学与优生学的基本知识、基本原理和研究方法，重点介绍人类遗传的胚胎学基础，人类遗传的分子和细胞学基础，人类遗传性疾病与优生，药物与遗传人类，代谢和发育中的遗传学问题，人体性状和行为的遗传，环境优生学；同时还对出生缺陷干预的策略和采取的措施，人类基因组及基因组计划、常见遗传性疾病及先天性畸形的诊断要点等作了全面阐述。最后还详细介绍了常见人类遗传与优生的实验诊断技术，包括：细胞遗传学技术，分子—细胞遗传学技术和分子遗传学技术等。为了查阅方便，还将我国人类遗传与优生有关的法律、法规及管理办法作为附录列在本书后面。本书涵盖了细胞生物学、发育生物学、分子遗传学、医学遗传学、进化生物学和环境科学等相关学科的部分内容。考虑到读者的知识基础和学习兴趣，本书对专业术语的描述，尽量采用通俗易懂的语言，深入浅出地进行描述。在内容编排上，注重科学性、实用性、趣味性和新颖性，搜集了部分病例和图片，既有常见的遗传病和感染性疾病，也有最新的科技成果，力求让读者在轻松、顺畅且饶有兴趣的阅读过程中获得较系统的、较全面的人类遗传与优生的知识。同时我们还注重尽可能贴近生活，从人们尤其是青年学生关注的问题入手介绍本研究领域中最新的成果和进展，拓宽读者的知识面。

编写本书是适合当前国内高等教育中素质培养的教改要求，也是符合加强科普教育、提高国民综合素质的新世纪目标的需要。本书的最终目的在于帮助人们解放思想、破除迷信，特别是能辨识歪理邪说，树立辩证唯物主义的世界观和科学观，提高我国人口的文化素质和科学素养。

本书适合普通高等院校开设“人类遗传与优生”公共选修课以及继续医学教育相关课程的教材或教学参考书，也可供广大医务工作者尤其是遗传优生专业技术人员系统了解有关人类遗传学和优生学内容的参考。在编写本书过程中，由于时间仓促，再加上本人的知识和水平所限，书中错误和不当之处在所难免，敬请同行及读者提出宝贵意见。

本书在编写过程中得到中国优生科学协会李崇高教授的精心指导和全书审阅；资料查阅和文字录入得到我的助手魏霞老师和研究生谢婷婷、李小波、曾梅的帮助，在此一并致谢。

丁显平

2004 年 12 月于四川大学

第二版前言

我国是世界上人口最多的国家，也是出生缺陷人口绝对数最多的国家。据统计，我国出生缺陷总的发生率为13.07‰。每年有20万～30万肉眼可见的先天性畸形儿出生，加上出生数月后显现出来的畸形，每年出生的先天性残疾儿童高达80万～120万人，占每年出生人口总数的4%～6%，即每30秒就有1名缺陷儿出生。为了从根本上降低我国的出生缺陷率，对当代大学生进行遗传与优生知识的普及是刻不容缓的大事。鉴于此，我们从2005年上学期开始至今，率先在四川大学面向全校各专业所有大学生开设《人类遗传与优生》这门文化素质选修课，每学期开1个或2个班，每个班限定在200人左右。从这几年的情况看，效果非常不错，每学期选课的人非常踊跃，开设的班期期爆满，更增添了我们继续坚持开设这门课程的信心。但《人类遗传与优生（第一版）》的教材是我们2005年编写出版的，当时由于时间关系，更重要的是当时是“摸着石头过河”，没有经验吸取，所以无论是在编写内容还是在章节分布上都有许多瑕疵，再加上第一版的书也已用完。因此，我们在第一版的基础上作了大量的修订，并对近几年的新知识进行了补充，增加了药物与遗传（成都中医药大学李科生教授撰写）、后基因计划（西南民族大学钟红梅副教授撰写）等内容，同时对其他章节的内容也进行了补充和修订。这对于非医学或非生物类专业的青年学生来讲更能全面系统地掌握人类遗传与优生的基本知识。当然，在第二版的修订过程中，由于编者的知识水平所限，书中错误和不当之处仍然在所难免，敬请同行及读者提出宝贵意见。

本书的编写得到中国优生科学协会医学遗传学专业委员会和成都市华大医院的大力支持，同时得到四川大学出版社的鼎力相助，在此一并致谢。

丁显平

2011年6月于四川大学华西医学中心

目 录

第一章 人类遗传与优生概述……（1）
第一节 人类遗传学研究的基本内容和方法……（1）
一、遗传与变异……（1）
二、遗传学……（2）
三、人类遗传学及其研究内容……（2）
四、人类遗传学的研究方法……（3）
第二节 优生学概论……（5）
一、优生学的概念……（5）
二、优生思想的诞生及发展……（5）
三、优生学研究的基本内容……（7）
四、中国优生科学的涵义和内容……（8）
五、目前我国采取的主要优生措施……（9）
第三节 遗传的基本规律……（11）
一、孟德尔定律……（11）
二、连锁与互换规律……（12）
思考题……（12）

第二章 人类遗传的胚胎学基础……（13）
第一节 人类精子的形成……（13）
一、男性内生殖器……（13）
二、睾丸的结构和功能……（14）
三、睾丸的内分泌作用……（14）
第二节 卵巢的功能及排卵……（15）
一、女性内生殖器……（15）
二、卵巢的产卵与内分泌功能……（16）
三、卵巢功能的调节……（18）
第三节 受精与胚胎发育……（19）
一、精子和卵子的结构……（19）
二、受 精……（20）
三、卵裂与胚胎发育……（21）
思考题……（25）

第三章 人类遗传的细胞学基础……（26）
第一节 细胞概述……（26）
一、细胞膜……（26）
二、细胞核……（26）
三、细胞质……（26）
第二节 细胞的分裂和增殖……（27）
一、细胞周期与细胞有丝分裂……（27）
二、减数分裂……（28）
第三节 人类染色体……（30）
一、人类染色质的化学组成……（30）
二、人类染色体的结构和数目……（30）
三、人类染色体的畸变……（36）
思考题……（38）

第四章 人类遗传的分子基础……（39）
第一节 核酸的结构、特性和功能……（39）
一、核酸的化学组成和分子结构……（39）
二、DNA 的特性和功能……（42）
第二节 基 因……（43）
一、基因的概念……（43）
二、基因的类别……（43）
三、基因的化学本质及组成形式……（43）
四、基因的结构……（44）
五、基因的表达……（44）
第三节 基因突变及其对人类的影响……（46）
一、基因突变的类型……（46）
二、基因突变产生的后果及对人类的影响……（47）
思考题……（48）

第五章 人类遗传性疾病与优生……（49）
第一节 人类遗传性疾病概述……（49）
第二节 染色体病与优生……（51）
一、染色体病的特征……（51）
二、染色体病的分类……（51）
三、携带者……（58）
第三节 单基因遗传与单基因遗传病……（58）
一、常染色体显性遗传……（58）
二、常染色体隐性遗传……（60）
三、性连锁遗传……（61）
四、分析单基因遗传病发病时应该考虑的诸多因素……（63）
五、常见单基因病举例……（66）

第四节 多基因遗传与多基因遗传病……（68）
一、多基因遗传……（68）
二、多基因遗传病……（69）
第五节 肿瘤与遗传……（71）
一、肿瘤发生的遗传学基础……（72）
二、肿瘤发生模型……（74）
三、遗传性肿瘤的特点……（74）
四、常见的遗传性肿瘤……（75）
五、具有易患肿瘤的某些遗传缺陷或遗传疾病……（76）
思考题……（77）

第六章 药物与遗传……（79）
第一节 药物代谢的遗传控制……（79）
一、药物的吸收和分布……（79）
二、药物对靶细胞的作用……（79）
三、药物的降解与转化……（79）
四、药物的排泄……（79）
第二节 异常药物反应的遗传基础……（80）
一、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症……（80）
二、过氧化氢酶缺乏症……（80）
三、琥珀酰胆碱敏感性……（81）
四、异烟肼慢失活……（81）
第三节 毒物质反应的遗传学基础……（81）
一、酒精中毒……（82）
二、吸烟与肺部疾病……（82）
三、吸烟与肺癌……（83）
思考题……（83）

第七章 人类代谢和发育中的遗传学问题……（84）
第一节 先天性代谢缺陷及代谢病……（84）
一、遗传性代谢病的主要类型……（84）
二、遗传性代谢病的发病机制……（84）
三、遗传性代谢病的临床表现特点……（85）
四、常见遗传性代谢病……（86）
第二节 分子病……（87）
一、血红蛋白病……（88）
二、血友病……（90）
三、假性肥大型肌营养不良症……（91）
四、家族性高胆固醇血症……（91）
五、睾丸女性化综合征……（92）
第三节 性别决定及性别发育中的遗传学问题……（92）

思考题……（93）

第八章 人体性状和行为的遗传……（94）
第一节 体表性状的遗传……（94）
一、遗传因素对体表性状的影响……（94）
二、生理生化指标的遗传……（97）
第二节 血型的遗传……（98）
一、ABO 血型系统 ……（98）
二、Rh 血型系统 ……（98）
第三节 身体素质的遗传……（99）
一、行为的遗传……（100）
二、智力的遗传……（101）
三、寿命的遗传……（102）
四、运动能力的遗传……（103）
思考题……（103）

第九章 环境优生学……（104）
第一节 环境中有害因素对人类遗传物质的影响……（104）
一、环境中有害物质的致突变作用……（104）
二、环境中有害物质的致癌作用……（106）
三、环境中有害物质的致畸作用……（109）
第二节 环境中有害物质对优生的影响……（112）
一、环境中有害因素在孕期不同阶段影响的特点……（113）
二、环境生物因素与优生……（113）
三、环境化学因素与优生……（115）
四、环境物理因素与优生……（120）
五、食品、营养与优生……（122）
六、食品卫生与优生……（125）
七、胎教与优生……（125）
八、影响优生的其他因素……（126）
思考题……（127）

第十章 实现优生的重要途径——出生缺陷干预……（128）
第一节 我国出生缺陷的现状……（128）
一、出生缺陷的定义……（128）
二、我国出生缺陷发生现状……（129）
三、出生缺陷的危害……（129）
第二节 出生缺陷干预……（130）
一、出生缺陷发生的原因……（130）
二、出生缺陷干预的基本目标和基本策略……（130）
第三节 遗传咨询……（131）
一、遗传咨询的对象及内容……（131）

二、遗传咨询遵循的原则……(132)
三、遗传咨询程序……(132)
四、遗传性疾病的再发风险估计……(133)
五、遗传性疾病患儿父母再生育原则……(135)
六、遗传性疾病的预防……(135)
七、遗传性疾病的治疗……(137)
八、遗传咨询中的注意事项……(137)
第四节 产前诊断……(137)
一、产前诊断的对象……(137)
二、产前诊断的策略……(138)
三、产前诊断的方法……(138)
四、产前诊断方法对母体及胎儿的影响……(139)
五、常见先天性疾病的产前诊断……(140)
思考题……(141)

第十一章 常见遗传性疾病及先天性畸形的诊断要点……(142)
第一节 常见染色体病的诊断要点……(142)
一、21 三体综合征 ……(142)
二、18 三体综合征 ……(142)
三、13 三体综合征 ……(143)
四、Turner 综合征 ……(143)
五、Klinefelter 综合征……(143)
第二节 单基因遗传病的诊断要点……(144)
一、常见甲型血友病诊断要点……(144)
二、乙型血友病诊断要点……(144)
三、假性肥大型肌营养不良（DMD）诊断要点 ……(145)
四、α一地中海贫血诊断要点 ……(145)
五、β一地中海贫血诊断要点 ……(145)
六、黏多糖贮积病诊断要点……(146)
第三节 几种严重的先天性畸形及其他遗传病的诊断要点……(147)
一、神经管缺陷诊断要点……(147)
二、强直性肌营养不良诊断要点……(148)
三、软骨发育不全诊断要点……(148)
四、成骨发育不全诊断要点……(149)
五、先天性无虹膜诊断要点……(149)
六、视网膜色素变性诊断要点……(150)
七、显性遗传的双侧性先天性小眼球诊断要点……(150)
八、白化病诊断要点……(150)
九、先天性聋哑诊断要点……(151)
思考题……(151)

第十二章 人类基因组及基因组计划……(152)
第一节 人类基因组……(152)
第二节 人类基因组的 DNA 标记……(153)
第三节 人类基因组研究……(155)
第四节 后基因组学……(156)
一、比较基因组学……(156)
二、功能基因组学……(157)
三、转录组学……(158)
四、蛋白质组学……(159)
五、生物信息学……(160)
思考题……(163)

第十三章 人类遗传与优生的实验诊断……(164)
第一节 细胞遗传学技术……(164)
一、外周血淋巴细胞培养及染色体制备技术……(164)
二、羊水细胞培养及染色体制备技术……(166)
三、妊娠早期绒毛细胞染色体标本的制备……(168)
四、胸、腹水及骨髓细胞的染色体制备方法……(170)
第二节 分子-细胞遗传学技术……(171)
一、荧光原位杂交……(171)
二、比较基因组杂交……(173)
三、光谱核型分析……(175)
四、寡核苷酸启动原位 DNA 合成技术……(176)
第三节 分子遗传学技术……(179)
一、核酸提取技术……(180)
二、基因体外扩增技术……(185)
三、核酸定量荧光实时检测技术……(200)
第四节 基因芯片技术……(207)
一、固相基因芯片……(207)
二、液相基因芯片……(212)
思考题……(216)

附录 人类遗传与优生的相关法律、法规及管理办法……(217)
一、中华人民共和国母婴保健法……(217)
二、中华人民共和国母婴保健法实施办法……(220)
三、中华人民共和国婚姻法(新)……(225)
四、产前诊断技术管理办法……(229)
五、人类辅助生殖技术管理办法……(232)

参考文献……(235)

第一章　人类遗传与优生概述

自古以来，人们一直在探索和认识自身的奥秘。人类基因组计划的实施和完成实现了人类全面认识自我的生物学信息，它诠释了人类遗传信息的编码，加深了人类对生命本质的认识，使人们通过对遗传物质的认识进一步理解人类优生的遗传本质。后基因组计划将阐明人类基因的定位、结构与功能，将明确基因与遗传性疾病的关系，将探讨基因表达的改良，以提高人类遗传素质。人类遗传学是专门研究人类遗传和变异规律的科学，是研究人类正常性状与病理性状的遗传现象及其物质基础的科学。人类遗传学是遗传学研究的热点，它始终与优生有不解之缘，没有遗传就没有优生，而优生又是推动人类遗传学发展的原动力。

第一节　人类遗传学研究的基本内容和方法

一、遗传与变异

俗话说："种瓜得瓜，种豆得豆"；"一母生九子，连母十个样"。前者就是遗传，后者却是变异。因此，遗传（heredity）就是指生物通过生殖繁衍后代，绵延种族，保持生物体在世代之间的延续。但生物体所产生的后代并不与祖先完全一样，而是或多或少地有些差异。这是由于遗传物质的重新组合或改变，或者受环境变化的影响等，导致自然界中的生物体不会出现两个完全一样的个体。这种同种生物体上下代之间或同代不同个体之间性状差异的现象就叫变异（variation）。

遗传与优生之间有着密切的关系。遗传是指生物繁殖过程中，子代与亲代相似的现象，不仅是形态、外貌上相似，而且结构、生理和生化特征等方面相似；是亲代的身体素质在子代机体的遗留和保存。亲代不仅可以把健康的遗传物质传递给下一代，也可以将各种缺陷的遗传物质传递给下一代。遗传物质异常所引起的遗传病已成为严重影响人类健康的疾病。由于多种原因，遗传病病种正以惊人的速度不断增加。据 Mckusick 统计，1958 年单基因遗传病为 412 种，到 2000 年达 10 930 种。在已发现的单基因遗传病中，有 1 300 多种严重危害人类健康，近 300 种伴有智力低下。现已知染色体病有 400 多种，其中有 170 多种染色体异常综合征会导致严重的临床症状。由于大部分遗传病尚无有效的治疗方法，遗传病的预防就特别重要。采取优生措施，淘汰有害基因，降低人类的遗传负荷，预防遗传病的发生是一个非常复杂而严峻的工作。

二、遗传学

遗传学是研究生物遗传和变异规律的科学。遗传变异的规律是生命科学中的一个基本规律，生物体的生长、发育、分类、进化以及人的生、老、病、死、智力、行为等均涉及遗传和变异，需要用遗传变异的一些理论来阐明或解释。

三、人类遗传学及其研究内容

人类遗传学是遗传学的一个重要分支。因其与人类的生活和生存息息相关而备受各方面的重视，研究者众多，从而推动了本科学的快速发展。人类遗传学一直是遗传学领域的研究热点。

人类遗传学研究的内容是人类遗传和变异及其规律，具体地说，主要研究和解决如下问题：

（1）人类的特征、特性是如何一代一代传下来并保持基本不变的？

（2）支配遗传现象的客观规律是什么？

（3）变异是如何发生的？有无规律可循？

（4）遗传和变异的物质基础是什么？它们的化学本质如何？

（5）人类能否通过控制遗传和变异，进而控制和治疗人的遗传性疾病，最终达到控制人类自身未来命运的目的？

解答上述这些问题则是人类遗传学的根本任务，也是人类自古以来梦寐以求的愿望。

人类遗传学的研究覆盖了与人类遗传变异有关的各个方面。由于不同方面的侧重点不同，并且与其他学科结合的侧重点也有差异。因此，形成了人类遗传学的许多分支。

（1）医学遗传学（medical genetics）是人类遗传学的一个重要分支。它是利用人类遗传学的原理与医学结合而形成的一门学科。它探索人类疾病与遗传的关系，进而达到控制人类疾病之目的。随着医学的发展，医学家们在临床实践中所遇到的一些问题（如某些疾病的病因、发病机制、病变过程、预防和诊治等）需要用遗传学的理论和方法才能解决。例如，为什么有高血压家族史的人更易患高血压病？生育过先天性缺陷婴儿的父母，再生育发生相同缺陷的风险有多大，是否可以再次生育？21－三体综合征是如何发生的，为什么21－三体综合征的发生率随母亲年龄的增大而增加？这类疾病能不能得到有效的预防？怎样才能预防这类疾病的发生而达到优生的目的？如此等等。医学遗传学研究人类遗传性疾病的发生机制、传递方式、发展规律，为遗传性疾病的诊断、预防、治疗提供科学依据和手段。

（2）细胞遗传学（cytogenetics）研究人类染色体的结构，异常（或畸变）的类型，发生频率及与疾病的关系。现在已认识到100余种染色体异常综合征和10 000余种罕见的异常核型。从细胞遗传学衍生出来的分支学科有：①进化细胞遗传学，主要研究染色体结构和倍性改变与物种形成之间的关系；②细胞器遗传学，主要研究细胞器如线粒体等的遗传结构；③分子细胞遗传学，主要研究染色体的亚显微结构和基因活动的关系；④医学细胞遗传学，主要研究染色体畸变与遗传病的关系；⑤体细胞遗传学，主要研究体细胞，特别是离体培养的高等生物细胞的基因结构功能及其表达规律等。

（3）生化遗传学（biochemical genetics）用生物化学方法研究遗传性疾病中的蛋白质或酶的变化以及核酸的相应改变。这使人们了解到分子病和遗传性代谢病对人类健康的影响。

（4）分子遗传学（molecular genetics）用现代分子生物学技术从基因的结构、突变、表

达、调控等方面研究遗传病的分子改变，为遗传病的基因诊断、基因治疗等提供了新的策略和手段。

（5）群体遗传学（population genetics）研究人群中的遗传结构及其变化规律。医学群体遗传学或遗传流行病学则研究人群中的遗传性疾病的种类、发病率、遗传方式、基因频率、携带者频率以及影响其变化的因素，如突变、选择、迁移、隔离、婚配方式等，以控制遗传性疾病在人群中的流行。

（6）药物遗传学（pharmacogenetics）也称药理遗传学，是遗传学和药物学结合而发展起来的边缘学科，主要研究遗传因素对人体药物反应能力在个体差异间的影响。它对于临床工作中的合理用药，减少不良反应，达到有效的治疗目的起着十分重要的作用。近年来，这一学科还得到了进一步扩展，形成了以研究群体中不同基因型个体对各种环境因素的特殊反应及适应特点为主要内容的生态遗传学（ecogenetics）。

（7）遗传毒理学（genetic toxicology）是用遗传学方法研究环境因素对遗传物质的损害及其毒理效应产生机制的一门学科。其目的在于评价这些外界因素对人类遗传的危害及其对人类健康的潜在威胁，为制定预防措施提供理论依据。

（8）免疫遗传学（immunogenetics）主要研究免疫反应的遗传本质和免疫应答过程中的基因调控。例如，抗原的遗传调控，抗体多样性产生的遗传机制，补体的遗传基础等。免疫遗传学为控制免疫过程、阐明免疫缺陷病提供手段，是输血、器官移植、新生儿溶血症和亲子鉴定等现代医学临床实践的重要理论基础，对于阐明免疫系统演化、人种差异和生物进化也有重要意义。

（9）体细胞遗传学（somatic cell genetics）用细胞的体外培养方法建立细胞系，这对研究基因突变及表达、细胞分化和肿瘤的发生等过程有独特的作用。其研究内容包括提高细胞融合完成体细胞杂交、产生体细胞杂种等，在单克隆抗体的制备和基因定位上有重要作用。

（10）肿瘤遗传学（cancer genetics）研究肿瘤的发生与遗传和环境之间的关系，主要包括三方面内容：恶性肿瘤易患性的遗传背景，遗传物质的变化或遗传信息的异常表达与恶性肿瘤发生的关系，以遗传学的方法分析环境中的致癌因素。肿瘤遗传学对肿瘤的诊断、治疗和预防均有重要意义。

（11）发育遗传学（developmental genetics）研究基因如何控制发育，分析基因和性状发育之间的关系。发育遗传学的研究对于了解畸胎、肿瘤等发生的机制，以及对于遗传性疾病的治疗、动物遗传工程的应用等都具有重要的意义。

（12）行为遗传学（genetics of behavior）研究控制人类行为的基因及其作用机制。行为是受基因控制的复杂的生物学过程。深入了解人类行为的遗传机制，将提高人类利用动物资源的能力，推动仿生学的发展，同时也为防治行为异常的遗传性疾病（如癫痫、躁狂抑郁症、精神分裂症、Alzheimer 病等）提供理论依据。

（13）优生学（eugenetics）以医学遗传学为基础，研究并提出有效的社会措施，以降低人群中有害基因的频率，逐步消灭有害基因；保持和增加有利基因频率并创造条件促进优秀素质的充分发展，从而改善人类遗传素质。

四、人类遗传学的研究方法

尽管人类遗传学是遗传学中的一个分支学科，但其研究方法却与普通遗传学不同，其根本原因在于人与其他生物具有的特点不同。人类遗传学研究方法主要有：

1. 社会普查法

社会普查法指选定某一人群，用简便、准确的方法对某种疾病进行普查，普查中特别注意该病发病是否具有家族聚集性、是否有特定的发病年龄。如果发现一种疾病在患者亲属中的发病率高于一般人群，而且一级亲属（父母、同胞、子女）的发病率高，并高于二级亲属（祖父母、外祖父母、叔、伯、姑、舅、姨、侄）的发病率；二级亲属的高于三级亲属（堂、表兄弟姐妹）的发病率；三级亲属的高于一般群体发病率，并且有特定的发病年龄，则表明该病的发生与遗传有关，或者说该病有遗传基础。为了排除同一家族成员的共同生活环境对该病发病的影响，可将血缘亲属与非血缘亲属的发病率进行比较——如果疾病与遗传因素有关，则血缘亲属的发病率高于非血缘亲属。

2. 系谱分析法

在初步确认某种疾病可能为遗传病后，搜集某家族中全部成员的发病情况，绘成系谱，依系谱特征进行分析，往往可以将其归入单基因遗传病中某一种类型的遗传病（详见第五章）。如果对该病的几个系谱进行分析，无法确认为单基因遗传病中的何种类型，就要考虑其可能为多基因遗传病。对比某种疾病的患者一级亲属的发病率（f）和一般群体发病率（p），如果符合 Edward 公式（$f=\sqrt{p}$），则可以认为该病有多基因遗传的基础（详见第五章）。

3. 双生子法

双生子可分为两类：一类是单卵双生（monozygotic twin，MZ），是由一个受精卵在第一次卵裂形成两个分裂球后，彼此分开各形成一个胚胎。因为这两个胚胎来自同一个受精卵，所以他（她）们的遗传基础完全相同。若不考虑环境因素的作用，他（她）们的特征会非常相似；他（她）们的性别也是一致的。另一类是双卵双生（dizygotic twin，DZ），是两个卵子与两个不同精子受精后发育成的两个胚胎。他（她）们之间的遗传基础像一般同胞那样相似，只是胚胎发育环境相同；二者的性别有 1/2 的可能性是相同的。

对比 MZ 和 DZ 疾病发病一致性（concordance）的差异即可估计出某种疾病是否有遗传基础。发病的一致性是指双生中一个患某种疾病，另一个也发生同样的疾病。如果 MZ 的一致性远高于 DZ 的一致性，就表示这种病与遗传有关；如果二者差异不明显，则表明遗传对这种病的发病起的作用非常小。发病一致性的计算公式如下：

$$\text{发病一致性（\%）}=\frac{\text{同病双生子对数}}{\text{总双生子（单卵或双卵）对数}}\times 100$$

4. 疾病组分分析法

一些复杂的疾病其发病机制不清，要研究其遗传基础，则可采取疾病组分分析法，即先将这种病分解为若干组分（环节），对各组分进行单独的遗传学研究。如果能确定某些组分是受遗传控制的，则可以认为这种病是有遗传基础的。例如，冠心病是一种有复杂病因的疾病，高脂血症是其组分之一，已知家族性高胆固醇血症是常染色体显性遗传的，因此推断冠心病是有遗传基础的。

5. 关联分析法

关联（association）是指两种遗传上独立的性状非随机地同时出现，而且并非连锁（linkage）所致。如果其中一种性状决定于某个基因座的等位基因，就可作为遗传标记（genetic marker）来检测另一种性状与之是否关联。如果确证有关联，则表明后一性状也有遗传基础。

6. 染色体分析法

对一些有多发畸形、体格和智能发育不全的患者或是孕早期有反复流产的妇女，如果怀疑其有染色体改变，经过核型分析可以确认是否有染色体异常的病因（详见第五章）。

7. 种族差异比较法

种族是在地理、文化、风俗习惯和宗教信仰上相对隔离的群体。每个种族的基因库彼此不同，他们在外形、肤色、虹膜、发质、颧骨等性状表现出遗传差异，且血型、HLA 类型、同工酶的基因频率各不相同。当某种疾病在不同种族具有不同的发病率、发病年龄和不同的临床表现时，应该考虑这种疾病与遗传有关。由于不同的种族存在生活环境、气候、饮食习惯、社会经济状况等差异，可能造成某种疾病的发病率差异。因此在比较不同种族的发病率的差异时，应该严格排除环境因素对疾病的影响。

第二节　优生学概论

当你准备做父亲或母亲时，你一定经常想到过这样一个问题：孩子能不能胜过自己呢？怎样才能使孩子“青出于蓝而胜于蓝”呢？这就涉及优生学的问题了。

一、优生学的概念

优生学（eugenetics）是用遗传学的原理和方法研究如何改善人类遗传素质的科学。优生学诞生于 19 世纪 80 年代，是在进化论和遗传学发展的基础上建立起来的。传统的优生学主要研究遗传因素对人类遗传素质的影响；现代的优生学除了研究改善遗传素质外，还要研究各种影响人类素质的危险因素，研究如何通过改善后天环境来促使优良的遗传素质得到充分的表达，并培育在体力上和智力上优秀的个体，即优育。优育着眼于胚胎发育的全过程直到出生后婴幼儿的保育，以及后天良好的家庭教育、学校教育和社会教育。因此，现代优生学包含了优生与优育两方面内容，优生侧重于改善人类的基因型，优育侧重于表现型的正常表达。

二、优生思想的诞生及发展

优生学作为一门学科，只有 100 多年的历史，但优生实践的历史与人类本身的历史同样悠久。早在原始社会制度尚未健全时期，就有对生下来有严重畸形或残疾婴儿处死或遗弃的风俗，以保证氏族繁盛。在我国春秋《左传》中曾有“男女同姓，其生不蕃”的记载。这里的同姓应理解为较近的血亲关系，表明当时人们已认识到近亲通婚的危害。汉朝文献中还有“有女不嫁消渴病（即现在的糖尿病）”，说明我们的祖先对于遗传病患者不宜结婚和生育也有所认识。古希腊哲学家柏拉图也提出择偶与生育年龄对后代健康的影响。他在《理想国》等著作中，提出“国家负责选优，淘汰劣的责任，保护良种，人口要受国家洗涤”；提出杜绝不健康的个体出生，即现在所倡导的“消极优生”。古代斯巴达人甚至实行过严格的选择后代的措施，规定低能的男女结婚要受到刑罚，畸形儿童可弃入山谷。

“优生”一词由英国人类遗传学家 Galton F 于 1883 年首先提出，意思是遗传健康。他认为要“研究在社会控制下能改善或削弱后代遗传素质的动因，这种遗传素质包括体格，也包括智力”。也就是说，优生学就是研究怎样使出生的孩子既聪明又健康，即研究改进人类

遗传素质的一门科学。换句话说，优生学就是以遗传学、医学为基础，研究减少遗传性疾病和提高人类素质的科学。

优生或优生学的英语一词为 eugenics，源自希腊语 eugenes 和 ics。Eugenes 原意是 well－born或 healthy birth，这本来是人类自古以来的良好愿望。西方人还给男孩或女孩起名为 Eugene（中文译作“尤金”或“欧根”）和 Eugenia（中文译作“尤金妮亚”），希望他或她健康成长。但自从遗传学开始发展起来后，有些生物学家想利用遗传学改良人种。高尔登（Galton）以及 20 世纪 30—40 年代一些北美和西欧的生物学家、医生、遗传学家关注种族的改良，掀起了盛极一时的优生运动。尤其在德国，他们要建立一门新的卫生学，称为“种族卫生学（rassenhygiene）”，不是关心个人和环境，而是注意人类的“种质（germ plasma）”。“种族卫生学”奠基者 Alfred Ploetz 和 Wilhelm Schallmayer 认为“种族卫生学”是保证日耳曼种质的预防医学，用迫使他们绝育或“安乐死”（当然是盗用这个名义）的办法防止“劣生者（inferiors）”繁殖。他们将健康的、精神健全的、聪明的人称为“优等者”；将有机体疾病的、患精神病的、智力低下的称为“劣生者”。他们企图利用政府和法律的力量强制推行他们的优生规划。于是，德国优生学家与纳粹政客结成了联盟，到 1942 年有38 000名德国医生参加了纳粹党，占当时德国全部医生的一半。他们联起手来，利用当时的人类遗传学实施了称之为“最后解决”的灭绝人类的大规模规划，导致触目惊心的虐杀犹太人和吉普赛人的历史悲剧，使优生学走入歧途。那时，人们对优生学“谈虎色变”，一些人把优生学与种族主义及法西斯主义混为一谈。1945 年以后，原子弹造成的遗传损伤逐渐被人们所认识。因此，对人类遗传学的研究引起了更多的注意。

20 世纪 30 年代，我国优生学家潘光旦把西方的优生学引入中国，出版了《优生学概论》、《优生学原理》等著作。他不仅宣传优生理论与思想，同时提出节制生育、限制人口、禁止血缘相近男女的“内婚”和早婚。20 世纪 50 年代由于种种原因，我国优生学被禁锢，相关的教学和科学研究被封锁。直到 1979 年在第一次全国人类和医学学术论文报告会上，才又开始重新提出优生学，开始认识到优生学对提高我国人口质量的作用。近年来，有人把优生学又称为民族健康学。它是由遗传学、医学、心理学、人口学、社会科学等相互渗透而发展起来的边缘学科及综合性的应用学科，是以遗传学为基础，跨自然科学和社会科学的一门学科。随着社会的进步，人类自身也应该不断改进，不能只满足于长得白白胖胖、没有病，而应该是健康、聪明、漂亮，从思想道德、科学文化、身体状况等多方面全面提高素质。开展优生学的研究，提倡优生，对个人、家庭、民族乃至整个人类都有着现实和深远的影响。优生运动在我国开展 30 多年以来，我们已经取得了举世瞩目的成绩。

优生直接关系到人口素质的提高乃至民族的前途。智力是优生学最关注的问题之一。人才是世界上所有资本中最宝贵的资本，国家之间的竞争说到底是人才的竞争。新技术推进了生产力的发展，现代化的生产设备对劳动者的文化素质要求越来越高，没有优秀素质的民族就将落伍于时代，人们要改造客观世界、要研究太空，同时也应该改造自己、研究自身，要重视生命的生产，即生育。许多人都“望子成龙”，希望自己的子女能够成为对社会有用的、出类拔萃的人才。所以应把优生、优育、优形、优教、优境等系列的优生思想变为人们自身的行动，紧紧围绕优生的三大要素——遗传、环境、教育三个方面，开发、培育人才。

链接：优生学由英国著名人类遗传学家高尔顿（Galton F，1822—1911 年）于 1883 年创立。他从动植物在人工选择下淘劣保优中受到启发，意识到人类遗传素质在社会控制下改善的可能性，开创性地运用进化论的原理去研究人类，并于

1883年写了《遗传的才华》、《人类才能的调查研究》等著作。Galton对人类许多特征进行过研究，如人类的体形和外貌，认为这些特征是遗传的。他调查分析了近300名“社会名流”的家史，其中包括法官、政治家、科学家、文学家、艺术家等。发现这些“名流”大多数出自显贵门第，出自一般市民的极少，由此得出“名流”是家族遗传的、“高贵者”聪明智慧、“卑贱者”愚昧低能的错误结论。他鼓吹“天才的遗传”。Galton的功绩在于运用进化论的原理把人类对优生的本能要求概括为学说。应该说Galton是人口控制和计划生育的重要先驱者，尽管其理论和哲学观点在历史上受到不同的褒贬。一些科学家进一步提出人种有高、低、优、劣之分。20世纪30—40年代，北美、西欧一些生物学家、医生、遗传学家关注种族的改良，掀起了盛极一时的优生运动。希特勒利用不合理的优生学内容明目张胆地推行种族主义，宣称“亚利安人是最优秀的人种”，“犹太等其他民族是劣等人种”，制造了灭绝人类大规模屠杀计划。六百多万犹太人惨死于这场所谓的为了德国民族利益的“除劣保优”运动。

三、优生学研究的基本内容

优生学是一门综合性科学，涉及遗传学、临床医学、环境科学、人口学、伦理学和法学等相关学科。优生学研究的基本内容包括：

（1）基础优生学：主要是从生物科学和基础医学方面对优生理论与技术进行的基础研究。诸如人类遗传学、毒理学、畸胎学及医学遗传学等有关研究属这一范畴。

（2）临床优生学：是对优生有关的各种医疗措施的研究。早期优生的医疗措施有绝育技术、人工流产和中期引产术以及避孕法。现在，日益发展的优生咨询、医学助孕技术、孕前保健、孕期保健、分娩监护、新生儿保健等研究属于这一范畴。

（3）社会优生学：就是从社会科学的角度，把优生作为一项社会运动，在全社会范围内进行优生宣传教育，使优生工作群众化、社会化。其内容包括优生立法、贯彻优生政策、开展优生运动，进而使优生工作群众化、社会化，以便达到改善人口素质、实现民族优生的社会目标。它涉及社会学、人口学、法学、伦理学、政策学、经济学等学科。

（4）环境优生学：即优境学，主要研究自然环境对人类生殖过程、胚胎发育及出生后健康成长的影响，提出保障母婴健康的环境卫生标准和相应预防对策。它是研究后天环境因素对人体智力和体力各方面影响的一门新型边缘学科。环境优生学涉及的学科有人类生态学、教育学、心理学、卫生医学、营养学及环境科学等。

根据优生学研究采取的措施，可将优生学分为正优生学和负优生学。正优生学（positive eugenics）是指研究怎样增加体力和智力上优秀个体的繁衍，又称为演进性优生学（progressive eugenics）；负优生学（negative eugenics）是指研究如何使人类健康地遗传，减少以至消除遗传病和先天性畸形患儿出生，又称为预防性优生学（preventive eugenics）。前者是优质的扩展，后者是劣质的消除。其目的都是为了扩展优秀的遗传因素，提高人类的遗传素质。

正优生学研究如何增加人群中产生有利表型的等位基因频率。即寻找有利的基因，人为地提高这些基因的表达，以促使体力和智力上优秀的个体出生。这是一项艰巨的任务，因为很难确定某个基因是绝对优秀或绝对有害的。一个基因在一种环境可能是好的，而在另一种环境则可能是有害的。目前，正优生学采取的措施有：

（1）优选生育：鼓励在体格和智力上优秀的个体生育更多的后代，某些国家已在优生法中加以规定。

（2）人工授精：将丈夫或他人的精液用人工注射的方法注入女方生殖道，达到受精的目的，可用新鲜精液或液氮冷藏精液。人工授精目前主要用于男性不育症患者、显性遗传病患者、隐性遗传病携带者以及 Rh 血型不合者。如果要达到正优生学的目的，则在人工授精前要优选精子。国外已有“精子银行”，用以贮备各种可供选择的精子。但所谓挑选的优秀精子只是按供精者表型挑选，未必真正“优秀”。故如何优选精子尚待研究解决，但分离 X 和 Y 精子已成功，因而可控制人工授精的性别。此外，用捐赠精子进行人工授精涉及血缘关系、财产继承等问题；而且捐赠精子使用次数有严格规定，否则会出现一系列伦理学问题。

（3）试管婴儿（test tube baby）：其真正含义为体外受精及胚胎移植。试管婴儿第一代通过直接采集夫妻双方的精子和卵子在体外完成受精过程，并培养形成胚胎，然后转移胚胎到子宫内，让其在子宫内着床。此法用以解决女性不育，特别是输卵管阻塞。试管婴儿第二代（体外显微受精胚胎移植技术）适用于极度少精、弱精患者，利用显微注射技术将精子注入卵母细胞胞浆内帮助授精。对于男方无精子的可通过附睾抽吸或者睾丸活检技术采集精子，借助显微技术得到属于自己的孩子，而不是盲目接受别人的供精。试管婴儿第三代适用于有遗传病的夫妇，将体外授精发育成的胚胎进行遗传病筛查，选取没有遗传病基因的胚胎移植到母体子宫内着床。

（4）单性繁殖：也称无性繁殖，即由单个生物体不经过受精过程而直接繁殖后代。克隆羊“多利”就是一个典型代表。它是将健康个体体细胞的细胞核移植给母体的去核卵子，形成一个新的细胞，将这个新细胞进行培养，形成克隆胚，然后将该胚植入到代孕母体的子宫内，经过一段时间后，产下与原个体基因型完全一致的个体。从动物克隆的实验来看，克隆物种的成活率很低。因为同正常生殖相比，通过克隆方式产生的生命大多存在着残疾、夭折。在多利羊的克隆实验中，277 个胚胎融合仅仅成活了多利一个，成功率只有 0.36%。许多有幸降生的克隆小牛很快死于心脏异常、尿毒症或呼吸困难。可见目前的克隆技术还有很多难以攻克的难关。现有的技术克隆人可能会出现各种各样残疾的胚胎或是婴儿。同时，克隆人涉及许多社会问题，如伦理道德、社会习俗和法律等。

（5）重组 DNA 技术：应用重组 DNA 技术改造人类遗传素质，人们可以按照自己的意愿组装人类的基因和染色体，创造更健康、优秀、长寿的人类。

负优生学是主要研究如何降低人群中不利表型的等位基因频率的一门科学，以防止或减少有严重遗传性或先天性疾病的个体出生。负优生学是当前优生研究的重点。近年来，我国开展的遗传与优生咨询、产前诊断和选择性流产等工作就是负优生学采取的主要措施。其中包括避免遗传病患者之间、近亲之间或患有某种疾病患者之间的婚配，婚前检查，孕前保健，孕期保健，分娩监护，围产期保健，新生儿筛查，环境保护等。

四、中国优生科学的涵义和内容

中国是世界上人口最多的国家，占世界人口的 1/5。中国政府根据自己的国情，把“控制人口数量，提高人口素质”作为基本国策。“提高人口素质”就是广义的优生。1981 年 12 月，陈慕华副总理在《为中华民族的幸福和未来——谈谈我国的人口问题》中指出：“提高人口的素质，包含着优生、优育一系列的工作要做。我们提倡优生、优育，是为了提高中华民族的素质，使我们的下一代，无论在德、智、体哪一方面都能够得到全面的发展，成为建设四化的有

用人才，使中华民族繁荣昌盛。”后来她又提出：“为了中华民族素质的不断提高，我们应大力进行优生宣传，逐步制订有关的法规，卫生部门要逐步开展优生门诊，努力减少先天愚型疾病和其他遗传疾病患者的出生。”1992 年 11 月，笔者在参加第三届全国优生科学大会时，在会上，看到江泽民总书记给大会的题词“发展优生科学事业，提高中华民族素质”；李鹏总理的题词是“大力普及优生科学，提高我国人口素质”。可见，党和国家对优生工作是何等的重视。近年来，我国制定了《中华人民共和国婚姻法》、《中华人民共和国母婴保健法》、《病残儿医学鉴定诊断标准及其父母再生育的指导原则》，以“保障母亲和婴儿健康，提高出生人口素质”为立法宗旨，这使得提高出生人口素质工作有了政策、法规的切实保障。2000 年，国家计划生育委员会在全国范围启动“出生缺陷干预工程”，积极推动出生缺陷的预防和控制工作。

“优生”即提高人口素质，是广义的优生。它不是单纯一门学科、一个部门能完成的；它是人们普遍的愿望和要求，即要求出生的孩子要“健康、聪明”。这里的“出生”二字非常重要，如果不强调“出生”，那就太广泛，甚至成为整个的人类健康活动。所以必须限制在“出生”前后，具体地针对这一人生的特殊阶段来进行多学科、多方面的努力，才能完成这项艰巨任务。

1981 年 10 月李崇高教授提出：“优生科学是在社会、经济、文化、道德的支持下，采用医学遗传学的科学方法，提高各民族的人口质量，提高每个人的德、智、体、美的素质，减少和消灭有害遗传基因的扩散，减少和控制各种遗传病和各种先天性畸形患儿的出世，进而逐步做到人类有目的地控制和发展自己。”在这个概念里强调一是在社会影响下，二是医学遗传学的方法，三是以预防性优生学为主。时至今日，优生科学又发展了 20 多年，根据这 20 多年的实践，大家认为：优生科学的英文应为 birth health science，而不能用 eugenes；它是一门综合科学，应包括产前遗传病和先天性畸形的诊断，围产医学中母婴保健，新生儿疾病筛查和保健，能影响胎儿发育和母亲健康的各种环境因素的优化，以及现在正在进行的辅助生殖技术等，当然还要包括与出生健康、聪明孩子各有关方面。

从以上内容看，我国的优生科学主要是“预防性优生学”，也就是采取一切措施以减少遗传病的发生。

五、目前我国采取的主要优生措施

1. 遗传咨询

遗传咨询是指由咨询医师或从事医学遗传学的专职人员对遗传病患者及其亲属所提出的有关其疾病的全部问题进行解答的过程。遗传咨询可分为婚前咨询、产前咨询或其他方面的咨询，如某些先天性畸形能否遗传给后代等（详见第九章）。医生进行咨询解答的步骤可分为：明确诊断，分析疾病的遗传方式，向咨询者及其亲属提出多种可供选择的建议。在进行遗传咨询时应重点注意有无近亲结婚的情况。

我国婚姻法明确规定：“直系血亲和三代以内旁系血亲禁止结婚”。血缘关系越近，婚后子女具有相同的某些隐性遗传病的致病基因的纯合子出现的概率就越高，使隐性遗传病患者增加。据统计，近亲结婚比非近亲结婚者遗传性疾病的发病率高 10 倍。血亲是指有血缘关系的亲属，禁止近亲结婚的目的是为了优生。

生育年龄的选择也非常重要。适宜的生育年龄是指已婚妇女最合适的生育年龄。它是以生理学、心理学、产科学及社会学等多学科理论为科学基础而确定的。从医学角度来看，男性最佳生育年龄是 25～29 岁，女性是 24～28 岁。一般不要超过 30 岁，尤其不要超过 35 岁。

据报道，先天愚型儿的发生率母亲年龄在25～29岁者为1/1 500，35～39岁者为1/250，45岁以上者达1/60。如果父亲年龄过大，超过39岁者，精子中染色体发生异常的机会及基因发生突变的机会增加，子代出现先天愚型及突变性状的风险也相应增高。父母双方年龄过小同样也不适合。据统计表明，20岁以下的产妇，生出先天性畸形儿和低体重儿的概率较高。

2. 坚持进行婚前医学检查

随着社会的进步，2003年我国取消了强制性婚前检查的规定，但并不意味着结婚双方就不需要进行婚前检查。婚前检查是对男女青年在结婚登记前进行的全面、系统的健康检查，是为了保障男女双方科学地选择生活伴侣，保障双方身体健康、婚后美满、家庭幸福，防止遗传病延续，是实现后代优生的重要前提。其重要意义是，为男女双方和下一代的身体健康提供保障；为实现人口优生、提高全民族素质奠定基础；为主动有效地掌握好受孕时间和避孕方法提供保健指导。

3. 加强孕期保健

怀孕期间做好保健工作，是优生的重要措施之一。怀孕期间要预防感染的疾病包括肝炎、流感、风疹、结核、泌尿道感染等。特别是病毒感染更易侵袭胎儿，可造成先天性心脏病、小头畸形、先天性聋哑、智力低下等畸形，或出现流产、死胎等情况。孕期用药一定要注意对胎儿的影响。例如，强镇痛剂可导致胎儿窒息死亡，性激素药物可使胎儿致畸或出生后智力低下，许多抗生素和降压药、肾上腺皮质激素等对胎儿都具有不同程度的毒性和致畸性。要避免接触有害物质（如硫、汞、铝、苯、一氧化碳、硫化氢等），不抽烟、不饮酒，注意个人卫生，穿着宽松、舒适，实行劳逸结合，保持心情愉快，节制两性生活。同时，在怀孕期间务必要进行必要的产前诊断。

产前诊断又称宫内诊断，它是利用医学遗传学的方法了解胚胎和胎儿在子宫内生长发育的情况，对是否患有某种遗传病或先天性畸形作出准确的判断，以便进行选择性流产，杜绝患儿出生。它是实现优生的有效措施（详见第十章）。

经过遗传咨询、产前诊断和综合分析病情后，对确定患有严重的先天性疾病和严重遗传病的胎儿，应用人工方法终止妊娠，称之为选择性人工流产。

4. 加强孕期营养

孕期的营养非常重要，它不仅要保证孕妇自身的需要，而且要保证胎儿生长、发育的需要，并且要为分娩的消耗和产后的哺乳做好准备。因此，保证营养的摄入非常重要（详见第九章）。

5. 适时进行胎教

有关胎教对优生尤其对智力、行为和心理发育的作用目前已得到肯定，并且已被越来越多的人所接受。在一定程度上，适时适宜的胎教对胎儿的发育无异于精神上的营养素（详见第九章）。

6. 适当推广遗传工程

自20世纪70年代开始，遗传工程已逐渐从实验性研究转入实际应用阶段，为改善人类遗传性现状、减少和防治遗传性疾病、优生、优育、提高人类素质开辟了新的途径。

基因工程是现代分子遗传学研究的实际应用。通过基因工程，人类可以将不同个体的优良基因进行自由结合，从而减少遗传性疾病的发生；或对已产生的遗传性疾病进行根本性治疗，即基因治疗。基因治疗的诞生和应用，从根本上改变了过去人类对遗传性疾病无能为力的被动状态。基因工程技术目前已广泛应用于从分子水平上寻找确诊遗传性的指标或探讨遗传性疾病和肿瘤的病因，对孕前及产前的早期诊断、突变基因携带者的检出以及肿瘤的预防和治疗均具有十分重要的意义。

我国现行的人口和计划生育政策是，继续提倡晚婚、晚育、少生、优生，继续提倡一对夫妇只生育一个孩子，有计划、有控制地安排符合条件的夫妇生第二个孩子，禁止超计划生育两胎和多胎，少数民族可适当放宽一些。计划生育是既利国家又利自己的大事，是文明进步的表现，全国人民都要自觉地执行。青年是四化建设的主力军，又是未来人口的繁衍者，更应当自觉地实行晚婚和计划生育。

第三节　遗传的基本规律

遗传的基本规律包括孟德尔分离律、自由组合律和摩尔根的连锁与互换规律。

一、孟德尔定律

孟德尔（Mendel G，1822—1884 年）是遗传学的奠基人。从 1857 年开始，他用豌豆为实验材料进行了大量的杂交（hybridization）实验，连续实验观察了 7 年，并 1865 年发表了《植物杂交的实验》论文。孟德尔在该论文中描述了各种性状（character）在杂交过程中传递的特点，提出了遗传因子（hereditary factor）的分离律和自由组合律的概念。由于他的工作是超时代的，所以当时并未引起人们的重视。直到 1900 年，孟德尔遗传定律才分别被德国的 Correns、荷兰的 de Vries 和奥地利的 Tschermak 重新发现和证实，从而奠定了遗传学的理论基础。

孟德尔首先选用严格自花授粉并具典型相对性状的纯豌豆（纯隐性和纯显性）作为亲本进行杂交，发现杂种子一代总是表现亲本的显性性状（dominant character），但子一代自交后又出现性状分离，即亲本具有的两种性状都得以表现。通过统计学方法分析表明，性状分离有一定的比率。对此，孟德尔提出假设来解释性状的传递规律，并以测交实验（test cross）验证了他的实验结果与根据假设预期的结果完全符合，证实传递的不是性状本身而是遗传因子，即现在所说的基因。

通过豌豆杂交实验，孟德尔系统地阐述了他的遗传假说。

1. 分离律

孟德尔第一个用实验方法建立了完全崭新的概念，它和当时影响遗传学领域的“融合遗传”概念截然不同。孟德尔认为尽管子一代可能仅表现其中一个亲本的性状，但在以后的世代中双亲的性状又可重新出现，说明双亲传递给子代的是可遗传的因子，它在世代传递中保持其固有的特性。孟德尔通过一对相对性状的遗传实验，发现子二代会出现性状分离。他认为这是由于杂种子一代中同对遗传因子并不融合，而是在形成生殖细胞时，同对遗传因子彼此分离，分别进入不同的生殖细胞中；受精时，由于生殖细胞的随机组合，子二代出现3∶1的表现型（phenotype）比率，或 1∶2∶1 的基因型（genotype）比率。这就是孟德尔第一定律——分离律（law of segregation）。其实质是：生物体在形成生殖细胞时，成对的等位基因彼此分离，分别进入不同的生殖细胞。

2. 自由组合律

孟德尔把第一定律推广到两对以上性状的杂交实验，发现子二代中，既有亲本原有性状的组合，又有亲本原来所没有的性状组合。由此提出，在形成生殖细胞时，不同对的遗传因

子彼此可以自由组合。因此，杂种子一代可产生 2^n 种生殖细胞，子二代出现 $(3:1)^n$ 表现型比率。这就是孟德尔第二定律——自由组合律（law of assortment）。其实质是：生物体在生殖细胞形成过程中，不同对的基因独立行动，可分、可合，是随机组合的。

二、连锁与互换规律

摩尔根（Morgan T H，1866—1945 年）在 1910 年用果蝇（fruit fly，或 drosophila）进行了大量的杂交实验，发现了连锁（linkage）和交换（crossing over），进而提出连锁与交换律。摩尔根于 1926 年发表了《基因论》（gene theory），提出基因在染色体上呈直线排列的理论。连锁和交换律的提出和基因论的创立进一步发展了遗传学。

摩尔根及其学生从果蝇的研究中发现，突变的白眼果蝇经过与红眼果蝇的杂交实验，子二代虽出现 3∶1 的表现型比率，但所有的白眼果蝇都是雄性的。摩尔根因而研究果蝇复眼的性状分离与性别的关系，并第一个把具体的基因——控制白眼性状的基因定位于特定的 X 染色体上。在研究两对相对性状的杂交实验中，发现子二代并不出现孟德尔的 9∶3∶3∶1 的表现型比率。摩尔根认为这是由于两对基因位于同一对同源染色体上，因此表现出连锁现象——连锁着的基因作为一个整体传递。但由于成对基因之间的交换，可发生一定频率的基因重组，导致成对基因之间的互换，或不完全连锁。

摩尔根和他的学生采用三个杂合体和三个隐性个体间进行测交，求得基因间的重组值，并把连锁基因的重组值和基因在染色体上的距离联系起来，提出基因在染色体上成直线排列的概念。

连锁和交换是生物界普遍存在的现象。凡是位于同一染色体上的基因，彼此间必然都是连锁的，这就构成了一个连锁群（linkage group）。从理论上讲，生物所具有的连锁群数目必然与其体细胞中染色体的对数相当，事实上也正是如此。例如，果蝇有 4 对染色体，已知果蝇的几百个基因分别构成 4 个连锁群；豌豆有 7 对染色体，它的基因分别构成 7 个连锁群。同一连锁群中的各对等位基因之间，都可以发生交换。同一对染色体上的两对等位基因之间相距愈远，发生交叉、交换的机会愈大，重组率愈高。因此，重组率反映着两个基因在染色体上的距离。

思考题

1. 什么是遗传学？什么是优生学？
2. 人类遗传学研究的基本方法有哪些？
3. 学习人类遗传与优生知识有何用途？

（丁显平）

第二章　人类遗传的胚胎学基础

第一节　人类精子的形成

一、男性内生殖器

男性内生殖器包括睾丸、附睾、输精管、精囊和前列腺，这些内生殖器各自发挥着自己的作用（如图 2－1 所示）。

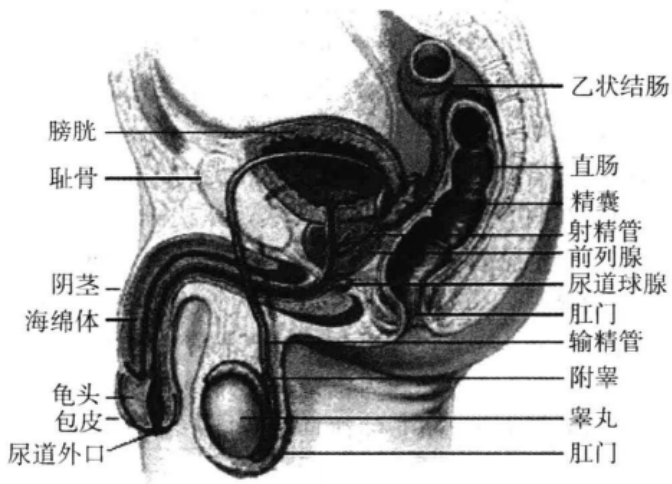


图 2－1　男性内生殖器结构图

睾丸是产生精子和分泌男性激素的器官，因而又称性腺。男性激素导致并维持男子的第二性征即喉结突起、生胡须、肌肉比较发达，又能维持性功能。激素通过血液循环作用于全身。

附睾位于睾丸的后外侧，呈扁平状。附睾是睾丸和输精管中间的一段通路。睾丸产生的精子被输送到附睾里贮存，附睾分泌的附睾液为精子提供营养，促进精子进一步成熟。

输精管是一条细长的管子，一端与附睾相连，另一端开口于尿道口，左右两侧各一条，每条全长为 40 cm～50 cm，其管壁肌层发达，管腔细小。在性冲动达到高潮射精或遗精时，精液通过输精管、尿道排出体外。

精囊和前列腺是生殖器官的附属腺体，分泌一种碱性液体，呈乳白色，可帮助精子活动，这是精液的主要成分。

二、睾丸的结构和功能

睾丸位于阴囊内，左右各一，呈微扁的卵圆形，由精曲小管与间质细胞组成。

精曲小管为十分盘曲的上皮性管道，由界膜围绕。其管壁上皮为特殊的生精上皮，由生精细胞和支持细胞构成。精曲小管的界膜具有收缩功能，可使精曲小管维持一定张力，促使精子向附睾方向输送。

原始的生精细胞为精原细胞，紧贴于精曲小管的基膜上。从青春期开始，在相关激素的作用下，精原细胞即进入分裂、分化，分阶段发育形成精子。精子生成的过程为：精原细胞→初级精母细胞→次级精母细胞→精子细胞→精子。在精曲小管管壁中，各种不同发育阶段的生精细胞是顺次排列的，即由基膜至管腔，分别为精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞、分化中的精子，直至成熟精子脱离支持细胞进入管腔。从精原细胞发育成为精子的整个过程需 60 余天。

支持细胞在精子发生的整个过程中为各级生殖细胞提供营养，并起着保持与支持的作用。支持细胞有诸多生理功能，包括：①合成雄激素结合蛋白，保证睾酮在精曲小管中维持较高浓度；②形成血睾屏障，防止生精细胞的抗原物质进入血液循环而引起免疫反应；③是促卵泡激素（FSH）的靶细胞；④支持细胞为生精细胞的分化发育提供合适的微环境，并有利于成熟精子的释放；⑤分解在精子形成过程中脱落的残余细胞质。

精子生成需要适宜的温度。阴囊内温度较腹腔内温度低 2 ℃左右，适于精子的生成。在胚胎发育期间，由于某种原因睾丸不降入阴囊而停留在腹腔内或腹股沟内，称隐睾症。隐睾症患者的精曲小管不能正常发育，影响精子产生。如果对发育成熟的动物睾丸进行加温处理，或施行实验性隐睾术，则可观察到生精细胞退化萎缩。

新生的精子释入精曲小管管腔内，本身并没有运动能力，而是靠小管外界膜的收缩和管腔液的移动运送至附睾内。在附睾内精子进一步成熟，并获得运动能力。附睾内可贮存小量的精子，大量的精子则贮存于输精管及其壶腹部。在性活动中，通过输精管的蠕动把精子运送至尿道；精子与附睾、精囊腺、前列腺和尿道球腺的分泌物混合形成精液，在性高潮时射出体外。正常男子每次射出精液为 2 mL～4 mL，每毫升精液约含2 000万到 1 亿个精子。每次射精量少于 2 mL 者，即使精子计数和活力正常，也难以致孕，因为精子传送到配偶子宫口要经过相当长的路程。精液量大于 4 mL 往往是精液过于稀薄所致。每毫升2 000万个精子被认为是致孕的下限。

三、睾丸的内分泌作用

1. 雄激素

雄激素由睾丸间质细胞分泌，主要为睾酮（testosterone，T）。

（1）睾酮的合成与代谢。睾酮是 C－19 类固醇激素。在间质细胞内，胆固醇经羟化、侧链裂解形成孕烯醇酮，再经 17－羟化并脱去侧链，形成睾酮。睾酮在其靶器官（如附睾和前列腺）内，被 5－α－还原酶还原为双氢睾酮，再与靶细胞内的受体结合而发挥作用。睾酮也可在芳香化酶作用下转变为雌二醇。

正常男性在 20～50 岁时，睾丸每天分泌 4 mg～9 mg 睾酮，血浆睾酮浓度为 22.7±4.3 nmol/L。50 岁以上，随年龄增长，睾酮的分泌量逐渐减少。

血液中 97%～99%的睾酮与血浆蛋白结合，只有 1%～3%睾酮是游离的。在血浆中存

在一种与睾酮有很高亲和力的蛋白质β球蛋白，其相对分子量为44 000～80 000。约有30%睾酮与这种球蛋白结合，它也可结合雌激素，故将这种球蛋白称为性激素结合球蛋白（sex hormone-binding globulin，SHBG）。约68%睾酮与血浆白蛋白结合。睾酮主要在肝脏被灭活，以17－羟类固醇结合型由尿排出，少量经粪便排出。

（2）睾酮的生理作用。睾酮主要有以下方面作用：①维持生精作用，睾酮自间质细胞分泌后，可经支持细胞进入精曲小管，睾酮可直接转变为活性更强的双氢睾酮，与生精细胞的雄激素受体结合，促进精子的生成；②刺激生殖器官的生长发育，促进男性副性征出现并维持其正常状态；③维持正常的性欲；④促进蛋白质合成，特别是肌肉和骨骼以及生殖器官的蛋白质合成，同时还能促进骨骼生长与钙、磷沉积和红细胞生成等。此外，睾酮可升高低密度脂蛋白、降低高密度脂蛋白，从而影响脂肪代谢，对男性性格和行为等也有影响。

2. 抑制素

抑制素（inhibin）由睾丸支持细胞分泌，是一种糖蛋白激素，由α和β两个亚单位组成，相对分子量为31 000～32 000。抑制素对腺垂体的FSH分泌有很强的抑制作用，而同样生理剂量的抑制素对LH分泌却无明显影响。

第二节　卵巢的功能及排卵

一、女性内生殖器

女性内生殖器包括卵巢、输卵管、子宫、阴道，这些内生殖器各自发挥着自己的作用（如图2－2所示）。

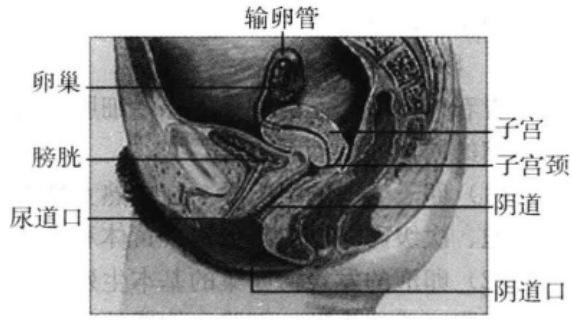


图2－2　女性内生殖器剖面图

卵巢（ovary）是女性产生卵子和分泌女性激素的器官，位于子宫的两旁、输卵管的后下方（如图2－3所示），左右两侧各一个。卵巢呈卵圆形，借助韧带固定在盆腔内。卵巢的大小和形状随年龄而有差异。青春期前卵巢表面光滑，青春期开始排卵后，卵巢表面逐渐变得凹凸不平。成年女子的卵巢为4 cm×3 cm×1 cm，重为5 g～6 g，呈灰白色；40岁以后卵巢开始缩小，并随着绝经而逐渐变小、变硬。卵巢组织分为皮质和髓质，皮质在外层，内含数以万计的卵泡和致密的结缔组织；髓质在卵巢的中心部分，含有疏松的结缔组织及其丰富的血管、神经、淋巴管。

输卵管为卵子与精子相遇的场所，受精后孕卵由输精管向子宫腔运送。输卵管是一对细长而弯曲的肌性管道，位于子宫两侧，内侧与子宫角相连通，外端游离而与卵巢接近。全长为10 cm～14 cm，平均管径为5 nm，其内壁的黏膜整个覆盖着能颤动的纤毛，成熟的卵子从卵巢排至腹腔，再经输卵管腹腔口进入输卵管，借助输卵管的蠕动和纤毛的运动，逐步向子宫方向移动。卵子与精子在输卵管壶腹部相遇结合成为受精卵，此后一边不断分裂、发育，一边向子宫方向运行，然后进入子宫腔内着床。如果卵子未能受精，进入子宫腔后自行

消亡。

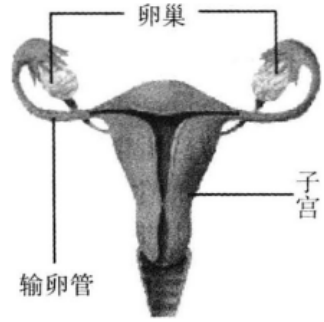


图 2-3 卵巢、输卵管与子宫之间的位置关系

子宫是孕育胎儿的场所，位于盆腔内呈倒置梨形，周围的韧带将其固定在盆腔内。子宫分子宫体、子宫底和子宫颈三部分。子宫内膜在月经初潮前处于功能静止期，厚度小于 1 cm；至青春中期，子宫内膜受到体内卵巢激素的影响而发生增殖、脱落的周期性变化，出现月经；青春晚期，子宫内膜出现增殖期及分娩期的周期性变化，形成规律的排卵性月经周期。子宫为精子到达输卵管的通道，也是胚胎着床、发育、成长的场地所在。当胎儿成熟分娩时，子宫收缩，胎儿及其附属物从子宫娩出。子宫在每个月的一定时间内可接受受精卵的着床。成人子宫大小为（7～8）cm×（4～5）cm×（2～3）cm。子宫腔的容量在未受孕时不超过 10 mL，在妊娠足月时可达4 000 mL；子宫重量亦从 50 g 左右增加到1 000 g 左右，以适应孕育胎儿的需要。

阴道是女子性交的器官，也是排出月经和分娩胎儿的通道。阴道壁由黏膜、肌层和纤维构成。由于阴道壁有许多横纹皱褶及外覆弹力纤维，因而有很大的伸展性。阴道壁富有静脉丛，局部受伤容易发生血肿。阴道黏膜由复层鳞状上皮细胞覆盖，无腺体，由宫颈腺黏液及阴道黏膜毛细血管的渗出液保持阴道的湿润（又称为白带）。青春期后，阴道黏膜上皮细胞内富含糖原，在阴道杆菌的分解作用下产生乳酸，使阴道分泌物保持弱酸性，可抑制阴道内致病菌的生长、繁殖，称为阴道的自净作用。在性冲动时，黏膜分泌的液体，能润滑阴道和阴茎。

二、卵巢的产卵与内分泌功能

卵巢是女性重要的性腺，其功能有二：一是产卵功能，即女性生殖功能的基础；二是内分泌功能，即分泌激素。

1. 卵巢的产卵功能

青春期以后，女性卵巢的原始细胞开始发育、生长、成熟，进而会有排卵及黄体的形成和退缩的周期性活动。

（1）卵子生成的组织学：在成熟女性生殖周期的不同阶段，我们可以看到原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡、黄体和白体。

（2）卵泡的发育：卵巢的基本生殖单位为原始卵泡。原始卵泡是由卵原细胞及其周围的卵泡细胞（或称为颗粒细胞）构成的集合结构。卵泡自胚胎形成后即进入自主发育和闭锁的轨道。胚胎 20 周时原始卵泡数量约为 700 万个，以后发生退化闭锁，原始卵泡逐渐减少。新生儿出生时卵泡数量约为 200 万个，经历儿童期直至青春期，卵泡数量下降到只剩下 30 万～50 万个。进入青春期后，卵泡在促性腺激素的刺激下发育成熟，性成熟期每个月发育一批卵泡，其中只有 1 个优势卵泡可以完全成熟并排出卵子，其余的卵泡在发育的不同阶段通过细胞凋亡机制而自行退化。女性一生中一般只有 400～500 个卵泡发育成熟并排卵。根据其卵泡的形态、大小、生长发育速度和组织学特征，将卵泡生长的过程分为原始卵泡、初级卵泡、次级卵泡、成熟卵泡。按照 Gougeon 的观点，卵泡发育至排卵的整个过程可以划分为下列 3 个阶段。

①初级卵泡：女性胎儿 7 个月时，原始卵泡中的卵原细胞增大为初级卵母细胞，扁平的

卵泡细胞包围在其外，组成一个球形结构，称为初级卵泡。在胎儿期，大多数原始卵泡不能达到成熟阶段即行退化。初级卵母细胞停留在减数分裂的双线期。

②次级卵泡：女性待青春期性成熟时，在促性腺激素的刺激下，部分初级卵泡继续生长。卵母细胞增大并分泌糖蛋白，形成透明带。颗粒细胞增殖活跃变为多层，外围的间质细胞包绕形成卵泡膜的内、外膜，颗粒细胞层与卵泡膜层之间出现基膜层，此时的卵泡称为次级卵泡。在此阶段，颗粒细胞上出现3种特异性受体，即卵泡刺激素（FSH）受体、雌激素（E）受体和雄激素（A）受体。在雌激素与促卵泡素协同作用下，卵泡膜细胞和颗粒细胞膜合成黄体生成素（LH）受体。卵泡膜细胞合成并分泌睾酮（T），它可以通过颗粒细胞层进入颗粒细胞。颗粒细胞能合成芳香化酶，在芳香化酶的作用下，睾酮转变为雌激素。诸多激素和血液循环中渗出的液体以及其他蛋白质等物质积聚在卵泡细胞的间隙中形成卵泡液。卵泡的体积逐渐增大。

③成熟卵泡：是卵泡发育的最后阶段，卵泡液急剧增加，卵泡体积增大（直径可达15 cm～20 cm）。卵母细胞及其周围的细胞被推向一侧，由卵泡及其包绕的颗粒细胞被称为卵丘。在一群发育的卵泡中有一个优势卵泡发育成熟并排出。在即将排卵之前，初级卵母细胞完成第一次减数分裂，释放出次级卵母细胞和第一极体。

（3）卵子的形成：卵原细胞→初级卵母细胞→次级卵母细胞→卵子（详见第三节）。

（4）排卵：卵细胞从卵巢被排出的过程称为排卵。排卵现象的产生，主要是因为卵泡分泌雌激素的量增加，进而诱发LH的大量分泌形成LH峰，刺激发育成熟的卵泡排卵。

排卵前，成熟卵泡分泌的雌激素高峰对于下丘脑产生正反馈，下丘脑释放大量促性腺激素释放素，刺激垂体释放促性腺激素（LH和FSH）并出现峰值。在LH峰的作用下，排卵前卵泡黄素化，产生少量孕酮。在LH、FSH排卵峰和孕酮的协同作用下激活卵泡内纤维蛋白溶解酶活性，纤维蛋白酶又激活基质金属蛋白酶，使基底膜降解形成排卵孔。排卵前卵泡液中前列腺素显著增多。前列腺素能够促进卵泡壁释放蛋白溶酶，促进排卵。排卵多发生在下次月经来潮前14天左右。

（5）黄体的形成和退缩：排卵后卵泡壁塌陷，残留的卵泡颗粒细胞与卵泡内膜细胞向内侵入，周围有卵泡外膜包围，在大量LH的作用下，形成具有内分泌功能的细胞团，新鲜时呈黄色，故称为黄体（corpus luteum）。卵泡颗粒细胞与卵泡内膜细胞黄素化，分别形成颗粒黄体细胞与卵泡膜黄体细胞。排卵后7～8天，黄体体积和功能达高峰，直径达到1 cm～2 cm。倘若卵子未受精，黄体在排卵后9～10天开始退化，称为月经黄体。黄体退化时黄体细胞逐渐萎缩变小，周围的结缔组织及成纤维细胞侵入黄体，逐渐被结缔组织取代，组织纤维化，外观呈白色，称为白体。如果卵子受精，黄体继续长大，则称为妊娠黄体。黄体功能衰退后月经来潮，卵巢开始新一轮的卵泡发育。

2. 卵巢的内分泌功能

卵巢是一个重要的内分泌腺，可以分泌多种激素，其中主要有雌激素、孕激素和少量雄激素等。

（1）雌激素：包括雌二醇、雌酮和雌三醇。其中雌二醇活性最强，雌三醇的活性最低。在LH和FSH的作用下，卵巢雌激素的合成由卵泡颗粒细胞与卵泡膜细胞共同完成。雌激素的主要生理作用有：①对生殖器官的作用。雌激素协同FSH促进卵泡发育，诱导LH峰的出现，促进排卵；促进输卵管上皮细胞增生，增强输卵管的运动，有利于精子与卵子的运行；促进子宫发育，导致内膜发生增生期的变化，有利于精子的运行；促进阴道黏膜上皮细

胞增生，使阴道分泌物呈酸性，增强阴道的抗感染力。②对乳腺和副性征的维持作用。③对代谢的影响。雌激素促进蛋白质合成，促进生长发育；刺激成骨细胞的活动，抑制破骨细胞的活动，促进骨的生长；提高血中载脂蛋白 AI 的含量，因而能降低胆固醇含量，有抗动脉粥样硬化的作用；高浓度的雌激素有引起水、钠潴留的趋势。

（2）孕激素：主要有孕酮、20－α－羟孕酮和 17－α－羟孕酮，其中孕酮的生物活性最强。孕激素由颗粒黄体细胞产生。排卵前卵泡的颗粒细胞黄素化，激活胆固醇侧链裂解酶、17－α－羟化酶等，使胆固醇转化为孕酮。孕酮主要在肝脏降解为孕二醇等代谢产物，然后随尿、粪排出体外。孕激素的生理作用有：

①对腺垂体激素的分泌起调节作用：排卵前，孕酮可协同雌激素诱发 LH 分泌出现高峰，而排卵后则对腺垂体激素的分泌起负反馈调节作用。

②对生殖器官的作用：孕激素首先能使子宫内膜进一步增生变厚；其次能使子宫肌细胞膜发生超极化，并降低子宫肌对催产素的敏感性，防止子宫收缩，从而维持胎儿的生长环境；再次，能使宫颈黏液变得黏稠，不利于精子的穿行。

③对乳腺的作用：在雌激素作用的基础上，孕酮主要促进乳腺腺泡发育，并在妊娠后为泌乳做好准备。

④使基础体温升高：孕激素的产热作用与下丘脑体温调节中枢有关，对下丘脑体温调节中枢有兴奋作用，可使基础体温（basal body temperature，BBT）在排卵后升高0.3 ℃～0.5 ℃。临床上可以此作为判定排卵期的标志，进行有计划地生育。

（3）雄激素：女性的雄激素主要为睾酮和雄烯二酮，大部分来自肾上腺，小部分来自卵巢。来自卵巢的雄激素由卵泡膜细胞和卵巢间质细胞合成。自青春期开始，雄激素分泌增加，促使阴蒂、阴唇和阴阜的发育，促进女性阴毛与腋毛的生长。排卵前在 LH 峰作用下，卵巢合成雄激素增多，可促进非优势卵泡闭锁和提高性欲。雄激素过多会对雌激素产生拮抗作用，可减缓子宫及子宫内膜的生长及增殖，抑制阴道上皮的增生和角化。

（4）抑制素：由卵巢颗粒细胞分泌，对垂体 FSH 的合成与释放具有反馈调节作用，并在卵巢局部通过自分泌或旁分泌的途径，调节卵泡膜细胞和颗粒细胞对促性腺激素的反应性。在卵泡期，其抑制 FSH 合成与释放的作用不如雌二醇强。到黄体期，抑制素的浓度增高，可明显抑制 FSH 的合成。在妊娠期，抑制素的主要来源是胎盘。

三、卵巢功能的调节

1. 子宫周期性活动

成年女性在生育年龄阶段其生殖系统活动呈现规律性周期变化，称为月经周期（menstrual cycle），又叫子宫周期（uterine cycle）。

月经周期中子宫内膜的变化是连续性的，根据内膜的组织学变化分三个期：月经期（menses）、增殖期（proliferative phase）、分泌期（secretory phase）。

（1）月经期：月经周期第 1～4 天。在此阶段，子宫内膜功能层从基底层崩解脱离。月经来潮前 24 h，子宫肌层收缩引起内膜功能层的螺旋节段性和阵发性收缩和痉挛，内膜血流减少，组织变性、坏死，血管通透性增加，血管破裂引起局灶性血肿，促进组织坏死剥脱。脱离的内膜与血液相混形成月经血。

（2）增殖期：月经周期第 5～14 天，相当于卵泡发育成熟阶段。此阶段在雌激素的作用下，子宫内膜出现增殖状态。内膜的脱落逐渐由新的内膜代替。到月经周期第 10～14 天，

内膜增厚，间质及腺体显著增生，腺体数量增多，间质细胞在雌激素的作用下产生的黏多糖形成间质中黏稠性的基础物质，对增厚的子宫内膜起支架作用。

（3）分泌期：月经周期第 15～28 天，相当于黄体期。在雌激素的作用下子宫内膜继续增厚，腺体增长超过内膜的厚度变弯曲。在孕酮的作用下，子宫内膜呈现分泌反应。月经周期第 20～24 天，内膜表现高度分泌活动，间质水肿、组织呈稀松状态、细胞肥大、胞质增多，螺旋小动脉增长、卷曲。月经周期第 25～28 天，如果未出现妊娠，雌激素、孕酮的分泌均减少，子宫内膜的腺体及腺细胞相应缩小、变形，糖原的分泌功能减退；间质内水减退而有白细胞浸润；内膜厚度减少 1/5～1/3，螺旋动脉受压缩而更加屈曲，血管内血流不畅；雌激素和孕激素的分泌量下降使细胞内膜细胞内溶酶体膜的稳定性遭受破坏，水解酶逸入组织，蛋白质、核酸和黏多糖分解。月经来潮前 24 h，螺旋小动脉阵发性收缩和痉挛，内膜血流减少，组织变性、坏死，子宫内膜脱离。

2. 卵巢功能的激素调节

（1）卵泡期（follicular phase）：即月经期和增殖期。血液中雌二醇和孕酮水平很低，对腺垂体和下丘脑的负反馈作用减弱，下丘脑 GnRH 的分泌增加，进而使腺垂体 FSH 和 LH 分泌也增加，促进卵泡发育、雌二醇分泌逐渐增多。在雌二醇的刺激下，一方面子宫内膜表现出增殖期的变化，另一方面对下丘脑 GnRH 呈正反馈作用，致使 LH 分泌进一步增多，导致成熟卵泡破裂，发生排卵。

（2）排卵期：LH 峰是引发排卵的关键因素。

（3）黄体期（luteal phase）：即分泌期，血液中孕酮和雌二醇水平明显升高，通过负反馈作用使下丘脑和腺垂体受到抑制，使 FSH 和 LH 的分泌减少。若卵子未受精，黄体退化，导致雌二醇和孕酮水平下降，出现月经。雌二醇和孕酮减少后，对下丘脑和腺垂体的负反馈作用减弱，FSH 和 LH 分泌又开始增加，进入下一个周期。

第三节　受精与胚胎发育

一、精子和卵子的结构

人类成熟的精子形如蝌蚪，长约 60 μm，由头部和尾部两部分组成。头内有一个高度浓缩的细胞核，核的前 2/3 有顶体覆盖。顶体实质上是一个很大的溶酶体，内含多种水解酶，如顶体蛋白酶、透明质酸酶、酸性磷酸酶等。在受精时，精子释放顶体酶消化卵子外面的结构，以使精子内的遗传物质进入卵内。精子尾部又称鞭毛（flagellum），是精子的运动装置。尾部可分为颈段、中段、主段和末段四部分。颈段很短，其内有两个相互垂直的中心粒。其他三段内的主要结构是由中心粒发出的轴丝，由 9+2 排列的微管组成。中段短，在轴丝外包有线粒体鞘，为鞭毛的运动提供能量。主段长，没有线粒体鞘，代之以纤维鞘。末段短，仅有轴丝。

人类精子由精原细胞发育而成。精子的发生经过四个时期：①增殖期，精原细胞以有丝分裂方式增殖，染色体数量为 46 条（$2n$），为二倍体。②生长期，精原细胞经过多次有丝分裂后，部分细胞体积增大，形成初级精母细胞。③成熟期，初级精母细胞经过连续两次分

裂，由初级精母细胞→次级精母细胞→精细胞。染色体数量为 23（n），为单倍体。④变形期，精细胞经过形态变化形成精子。1 个精原细胞经过两次减数分裂最终可产生 4 个有功能的精子。

人类卵细胞是一个大型的单个细胞，储存有大量的营养供胚胎发育所用。人类卵细胞的直径约为 0.1 mm。卵细胞的细胞质中富含蛋白质、脂类和多糖的营养成分称为卵黄（yolk），它们通常存在于卵黄颗粒中。卵细胞的外面具有外被（coat），其成分主要是糖蛋白，被叫做透明带（zona pellucida），其作用是保护卵子，阻止异种精子进入。许多卵细胞的透明带下面（即皮质部，cortex）还有一层分泌性的囊泡，称为皮层颗粒（cortical granules），受精时以外排的方式释放皮层颗粒能引起透明带结构变化，形成受精膜，阻止其他精子进入。

人类卵子由卵原细胞发育而成。其发生过程及染色体变化与精子发生过程相似，但没有变形期。因此，卵细胞发生经过三个过程，即增殖期、生长期和成熟期。与精子形成还有不同的地方在于卵原细胞的细胞质在分离中不均衡分布。第一次减数分裂后形成的两个细胞，一个含有大量细胞质，称为次级卵母细胞；另一个只含有极少量细胞质，称为第一极体，第一极体通常不能进入第二次减数分裂而自行退化。在第二次减数分裂期间，细胞质再次发生分配不均衡现象，一个保留大量的细胞质，称为卵细胞；另一个只有极少细胞质，称为第二极体。因此，1 个卵原细胞经过两次减数分裂最终可产生 1 个有活性的卵细胞，且在受精时才完成第二次分裂。从卵巢排出的卵子处于第二次成熟分裂的中期，若未受精，则于排卵后 12 h～24 h 退化。

二、受　精

受精包括精子的获能（capacitation）、顶体反应（acrosome reaction）、皮层反应（cortical reaction）、原核形成和融合等过程。

成熟精子有螺旋式前向运动能力，但没有受精能力，不能穿过卵子的放射冠和透明带，只有接触女性生殖道的分泌物（获能因子）后，才具有受精能力，这种作用称为精子获能。在体外条件下，血清白蛋白（serum albumin）、高密度脂蛋白（high-density lipoproteins）、氨基聚糖（glycosaminoglycans）、孕酮、钙离子载体等均可促进精子获能。获能后精子表面阻止受精的附睾蛋白和精浆蛋白被除去或改变，质膜胆固醇流失，与卵子结合的受体暴露。获能期间，钙通道被激活、耗氧量和糖酵解明显增加、pH 升高、腺苷酸环化酶激活，导致胞内 cAMP 含量升高，蛋白激酶 A 活化，精子活力增加，顶体酶原转化为有活性的顶体酶。

> 链接：睾丸精子仅表现为轻微颤动，在附睾内运送过程中逐渐出现原地摆动，继而原地转圈，最后出现成熟精子特有的螺旋式前向运动功能。精子的运动能力与精子的受精能力是两个不同的概念，受精能力正常离不开运动能力活跃，但运动能力活跃并不等于受精能力正常。例如，缺少受精能力的无头精子及畸形头精子，同样可有活跃的前向运动功能。

获能的精子首先借助头后部（顶体后区）质膜 PH－20 的透明质酸酶活性穿过卵子外卵丘细胞层，到达透明带，然后精子通过头前部（顶体区）质膜表面的 ZP 结合蛋白与卵子透明带发生识别，完成结合过程，诱发顶体反应。顶体以外排的方式释放出水解酶，将卵子的透明带和卵黄膜溶解，形成精子穿过的通道。

一旦精子进入卵子内，立即激活其细胞质，引起皮质反应（cortical reaction）。其表现为卵细胞表面出现受精锥，卵皮质颗粒首先于与精子接触点处发生破裂，颗粒内的各种蛋白酶被释放出来，这一反应可迅速波及整个卵子的皮质层。由于这种蛋白酶可以破坏透明带的精子受体结构，并使透明带硬化，以及使卵细胞膜表面出现保护层，即受精膜，可防止发生多精受精现象。

精子进入卵子后，导致卵膜去极化，使精子受体失活。精子的刺激使处于休眠状态的卵子被激活，重新回到减数分裂阶段，迅速完成第二次分裂，释放极体。此时精子和卵子的细胞核分别称为雄原核（male pronucleus）和雌原核（female pronucleus）。两个原核逐渐在细胞中部靠拢，核膜随即消失，染色体混合，形成二倍体的受精卵（fertilized ovum），又称合子（zygote）。

通常一个卵子和一个精子结合，多精进入会形成多余的分裂极和纺锤体，导致细胞异常分裂而使胚胎发育终止。受精后通过两种机制阻止多精进入：一是膜瞬间去极化；二是通过皮层反应，破坏精子受体和形成受精膜。受精后精子的核、中心粒（鞭毛基粒）和线粒体均注入卵子中。线粒体之所以表现为母系遗传，是因为受精卵中只有仅母本线粒体可以存活。

精子穿过透明带，到达卵周隙后位于精子头后部质膜的受精素（fertilin，也叫 ADAM）与卵子质膜上的整合素发生识别和结合，并启动精子与卵子的质膜融合系统，最终实现受精过程。

三、卵裂与胚胎发育

（一）卵裂

卵裂（cleavage）是指受精卵经过分裂，将卵质分配到子细胞的过程，分裂产生的细胞叫做分裂球（blastomere）。卵裂和一般有丝分裂相似，但不经过间期，所以卵裂期间仅仅是细胞数目的增加，不伴随细胞生长。随着细胞数量增加，子细胞的核质比逐渐增大，直到接近正常核质比时，分裂球才开始生长，进入到一般的有丝分裂过程。受精卵借助输卵管的蠕动和输卵管上皮纤毛推动向子宫腔方向移动。受透明带的限制，卵裂球中细胞虽增多但体积并不增大，适应在狭窄的输卵管中移动。

卵裂的方式与卵黄含量和分布有关，较大、卵黄较多的卵是以偏裂的方式进行的，反之多以均裂的方式进行（人卵）。哺乳动物的卵裂较慢，受精后约 30 h 才开始卵裂，受精后 50 h为 8 细胞阶段。在 8 细胞阶段之前，分裂球之间结合比较松散，8 细胞阶段之后突然紧密化（compaction），即通过细胞连接形成致密的球体。受精后 72 h 为 16 细胞期，内部 1 个或 2 个细胞属于内细胞团，将来发育为胚胎，而其外周细胞变为滋养细胞，不参与组成胚胎结构，而是参与形成绒毛膜。

（二）胚胎发育

通常人类的胚胎在 64 细胞阶段以前为实心体，称为桑葚胚。受精后第 4 天，胚胎进入子宫腔，卵裂细胞出现形态学上可辨别的分化，卵裂胚中不卵裂球仍保持原形，外周细胞逐渐变成扁平形，称为早期胚胎的滋养层细胞。该层细胞与取得母体营养有关，同时随着子宫腔分泌液透过透明带进入细胞间隙，胚胎中央出现腔隙，形成一个囊腔。受精后第 6～7 天，透明带消失，细胞团内部空隙扩大，成为充满液体的囊胚腔（blastocoel），此时的胚胎称为囊胚。

囊胚继续发育，部分位于外表面的细胞通过各种细胞运动方式（如移入、内卷、内陷）进入内部从而形成一个二层或三层的原肠胚。这种细胞迁移运动过程，称为原肠形成（gastrulation）。留在外面的称为外胚层（ectoderm），迁移到里面的称为内胚层（endoderm）或中－内胚层（meso-endoderm）。原来的囊胚腔亦随原肠腔的形成而逐渐消失。

第4周初至第8周末的发育过程，胚胎不仅初具人形，而且胚盘的三胚层分化发育，建成各器官系统的雏形；胎膜和胎盘也于此时期发育形成。此时期的胚胎发育对环境因素的作用十分敏感，某些有害因素（病毒）、药物等易通过母体影响胚胎发育，而导致发生某些严重的先天性畸形。

1. 胚体形成

早期胚盘为扁平的盘状结构。随着胚层的分化，扁平形胚盘逐渐变为圆柱形的胚体。这是通过胚盘边缘向腹侧卷折形成头褶、尾褶和左右侧褶而实现的，也与羊膜腔和卵黄囊的演变有关。胚盘卷折主要是由于各部分生长速度的差异所引起，如胚盘中部的生长速度快于边缘部。外胚层的生长速度又快于内胚层，致使外胚层包于胚体外表，内胚层卷到胚体内，胚体凸到羊膜腔内。胚盘头尾方向的生长速度快于左右方向的生长，头侧的生长速度又快于尾侧，因而胚盘卷折为头大尾小的圆柱形胚体，胚盘边缘则卷折到胚体腹侧。随着胚的进一步发育，胚体腹侧的边缘逐渐靠近，最终在胚体腹侧形成圆索状的原始脐带，与绒毛膜相连。

圆柱形胚体形成的结果有：胚体凸入羊膜腔的羊水内；体蒂和卵黄囊连于胚体腹侧脐处，外包羊膜，形成原始脐带；口咽膜和泄殖腔膜分别转到胚体头和尾的腹侧；外胚层包于胚体外表；内胚层卷折到胚体内，形成头尾方向的原始消化管，管中的腹侧借缩窄的卵黄蒂与卵黄囊通连，管头端由口咽膜封闭，尾端由泄殖腔膜封闭。至第8周末，胚体外表已可见眼、耳和鼻的原基及发育中的四肢，初具人形。

2. 胚层分化

胚体形成的同时，三个胚层也逐渐分化形成各器官的原基。

（1）外胚层的分化：脊索形成后，诱导其背侧中线的外胚层增厚呈板状，称神经板（neural plate）。神经板随脊索的生长而增长，且头侧宽于尾侧。继而神经板中央沿长轴下陷形成神经沟（neural groove），沟两侧边缘隆起称神经褶（neural fold），两侧神经褶在神经沟中段靠拢并愈合，愈合向两端延伸，使神经沟封闭为神经管（neural tube）。神经管两侧的表面外胚层在管的背侧靠拢并愈合，使神经管位居于表面外胚层的深面。神经管是中枢神经系统的原基，将分化为中枢神经系统以及松果体、神经垂体和视网膜等。神经管的头端发育迅速，膨大成脑泡，为脑的原基；神经管其余部分较细，为脊髓的原基；神经管中央的管腔将分化为脑室和中央管。在神经褶愈合过程中，它的一些细胞迁移到神经管背侧成一条纵行细胞索，继而分裂为两条分别位于神经管的背外侧，称神经嵴（neural crest）。它将分化为周围神经系统，神经嵴细胞进行远距离迁移形成肾上腺髓质和某些分泌肽激素（APUD）的细胞。当神经管闭合时，在胚体的头端两侧可见耳原基和晶状体原基，被覆在胚体表面的外胚层，将分化为皮肤的表皮及其附属器，以及牙釉质、腺垂体、口腔和鼻腔与肛门的上皮等。

（2）中胚层的分化：中胚层在脊索两旁从内侧向外侧依次分化为轴旁中胚层、间介中胚层和侧中胚层。分散存在的中胚层细胞，称间充质，分化为结缔组织以及血管、肌组织等。

脊索则大部分退化消失，仅在椎间盘内残留为髓核。

①轴旁中胚层（paraxial mesoderm）：紧邻脊索两侧的中胚层细胞迅速增殖，形成一对纵行的细胞索，即轴旁中胚层。它随即裂为块状细胞团，称体节（somite）。体节左右成对，从颈部向尾部依次形成，随胚龄的增长而增多，故可根据体节的数量推算早期胚龄。第5周时，体节全部形成，共42～44对。体节将分化为皮肤的真皮和大部分中轴骨骼（如脊柱、肋骨）及骨骼肌。

②间介中胚层（intermediate mesoderm）：位于轴旁中胚层与侧中胚层之间，分化为泌尿生殖系统的主要器官。

③侧中胚层（lateral mesoderm）：是中胚层最外侧的部分，两侧的侧中胚层在口咽膜的头侧汇合为生心区。随着胚体的形成，生心区移到胚体原始消化管的腹侧，口咽膜的层侧，分化形成心脏。侧中胚层迅即裂为两层。与外胚层邻近的一层，称体壁中胚层（parietal mesoderm），将分化为体壁（包括肢体）的骨骼、肌肉、血管和结缔组织；与内胚层邻近的一层，称脏壁中胚层（visceral mesoderm），覆盖于原始消化管外面，将分化为消化和呼吸系统的肌组织、血管和结缔组织等。两层之间的腔为原始体腔，最初呈马蹄铁形，继而从头端到尾端分化为心包腔、胸膜腔和腹膜腔。

（3）内胚层的分化：在胚体形成的同时，内胚层卷折形成原始消化管。原始消化管将分化为消化管、消化腺、呼吸道和肺的上皮组织，以及中耳、甲状腺、甲状旁腺、胸腺、膀胱和阴道等的上皮组织。

3. 胎膜和胎盘的形成及作用

胎膜和胎盘是对胚胎起保护、营养、呼吸和排泄等作用的附属结构，有的还有一定的内分泌功能。胎儿娩出后，胎膜、胎盘与子宫蜕膜一并排出，总称衣胞。

（1）胎膜（fetal membrane）：包括绒毛膜、羊膜、卵黄囊、尿囊和脐带。

①绒毛膜（chorion）：由滋养层和衬于其内面的胚外中胚层组成。植入完成后，滋养层已分化为合体滋养层和细胞滋养层两层，继之细胞滋养层的细胞局部增殖，形成许多伸入合体滋养层内的隆起。这时，表面有许多突起的滋养层和内面的胚外中胚层合称为绒毛膜。绒毛膜包在胚胎及其他附属结构的最外面，直接与子宫蜕膜接触，膜的外表有大量绒毛（yilli）。绒毛的发育使绒毛膜与子宫蜕膜的接触面增大，利于胚胎与母体间的物质交换。第2周末的绒毛仅由外表的合体滋养层和内部的细胞滋养层构成，称初级绒毛干。第3周时，胚外中胚层逐渐伸入绒毛干内，成为次级绒毛干。此后，绒毛干内的间充质分化为结缔组织和血管，形成三级绒毛干。绒毛干进而发出分支，形成许多细小的绒毛。同时，绒毛干末端的细胞滋养层细胞增殖，穿出合体滋养层，伸抵蜕膜组织，将绒毛干固着于蜕膜上。这些穿出的细胞滋养层细胞还沿蜕膜扩展，彼此连接，形成一层细胞滋养层壳，使绒毛膜与子宫蜕膜牢固连接。绒毛干之间的间隙，称绒毛间隙（intervillous space）。绒毛间隙内充以从子宫螺旋动脉来的母体血。胚胎藉绒毛汲取母血中的营养物质并排出代谢产物。

胚胎早期，整个绒毛膜表面的绒毛均匀分布。之后，由于包蜕膜侧的血供匮乏，绒毛逐渐退化、消失，形成表面无绒毛的平滑绒毛膜（smooth chorion）。基蜕膜侧血供充足，该处绒毛反复分支，生长茂密，称丛密绒毛膜（villous choriont），它与基蜕膜组成胎盘。丛密绒毛膜内的血管通过脐带与胚体内的血管连通。此后，随着胚胎的发育增长及羊膜腔的不断扩大，羊膜、平滑绒毛膜和包蜕膜进一步凸向子宫腔，最终与壁蜕膜愈合，子宫腔逐渐消失。

绒毛膜为早期胚胎发育提供营养和氧气，丛密绒毛膜参与组成胎盘。在绒毛膜发育过程中，若血管未通连，胚胎可因缺乏营养而发育迟缓或死亡。若绒毛膜发生病变，如滋养层细胞过度增生、绒毛内结缔组织变性水肿（水泡状胎块）、滋养层细胞癌变（绒毛膜上皮癌）等，不仅严重影响胚胎的发育，还危及母体健康。

②羊膜（amnion）：为附着在绒毛膜板表面的半透明薄膜，形成羊膜腔。内充满羊水（amniotic fluid），胚胎在羊水中生长发育。羊膜最初附着于胚盘的边缘，随着胚体形成、羊膜腔扩大和胚体凸入羊膜腔内，羊膜遂在胚胎的腹侧包裹在体蒂表面，形成原始脐带。羊膜腔的扩大逐渐使羊膜与绒毛膜相贴，胚外体腔消失。羊水呈弱碱性，含有脱落的上皮细胞和一些胎儿的代谢产物。羊水主要由羊膜不断分泌产生，又不断地被羊膜吸收和被胎儿吞饮，故羊水是不断更新的。羊膜和羊水在胚胎发育中起重要的保护作用。羊水是胎儿的外围保护，避免胎儿受到挤压，胚胎在羊水中可较自由的活动，有利于骨骼及骨骼肌的正常发育，并防止胚胎局部粘连或受外力的压迫与震荡；保持羊膜腔内恒温；临产时，羊水还具扩张宫颈与冲洗产道的作用。随着胚胎的长大，羊水也相应增多，在妊娠 10 周为 30 mL，妊娠 20 周约为 400 mL，分娩时为1 000 mL～1 500 mL。羊水过少（500 mL 以下）易发生羊膜与胎儿粘连，影响胎儿正常发育。羊水过多（2 000 mL 以上）也可影响胎儿正常发育。羊水含量不正常，还与某些先天性畸形有关。例如，胎儿无肾或尿道闭锁可致羊水过少，胎儿消化道闭锁或神经管封闭不全可致羊水过多。穿刺抽取羊水，进行细胞染色体检查或测定羊水中某些物质的含量，可以早期诊断某些先天性异常。

③卵黄囊（yolk sac）：位于原始消化管腹侧。鸟类胚胎的卵黄囊很发达，囊内贮有大量卵黄，为胚胎发育提供营养。人胚胎的卵黄囊内没有卵黄，卵黄囊不发达，它的出现也是种系发生和进化的反映。人胚胎卵黄囊被包入脐带后，与原始消化管相连的卵黄蒂于第 6 周闭锁，卵黄囊也逐渐退化。但人类的造血干细胞和原始生殖细胞却分别来自卵黄囊的胚外中胚层和内胚层。

④尿囊（allantois）：是从卵黄囊尾侧向体蒂内伸出的一个盲管，随着胚体的形成而开口于原始消化管尾段的腹侧，即与后来的膀胱通连。尿囊闭锁后形成膀胱至脐的脐正中韧带。鸟类胚胎的尿囊发达，具气体交换和储存代谢废物的功能。人胚胎的气体交换和废物排泄由胎盘完成，尿囊仅为遗迹性器官，但其壁的胚外中胚层形成脐血管。

⑤脐带（umbilical cord）：是连于胚胎脐部与胎盘间的索状结构。脐带外被羊膜，内含体蒂分化的黏液性结缔组织。结缔组织内除有闭锁的卵黄带和尿囊外，还有脐动脉和脐静脉。脐血管的一端与胚胎血管相连，另一端与胎盘绒毛血管续连。脐动脉有两条，将胚胎血液运送至胎盘绒毛内，绒毛毛细血管内的胚胎血与绒毛间隙内的母血在此进行物质交换。脐静脉仅有一条，将胎盘绒毛汇集的血液送回胚胎。胎儿出生时，脐带长为 40 cm～60 cm，粗为 1.5 cm～2 cm，透过脐带表面的羊膜，可见内部盘曲缠绕的脐血管。脐带过短，胎儿娩出时易引起胎盘过早剥离，造成出血过多；脐带过长，易缠绕胎儿肢体或颈部，可致局部发育不良，甚至致胎儿窒息死亡。

（2）胎盘（placenta）：由羊膜、叶状绒毛膜和底蜕膜构成。羊膜构成胎盘的胎儿部分，在胚胎最内层；叶状绒毛膜构成胎盘的胎儿部分，为胎盘的主要部分；底蜕膜构成胎盘的母体部分。胎盘功能复杂，具有物质交换、代谢、防御以及合成功能，是维持胎儿在子宫内营养发育的重要器官。

思考题

1. 人类的精子和卵子是怎样形成的？
2. 胚胎是怎样发育的？

（丁显平　李科生）

第三章 人类遗传的细胞学基础

第一节 细胞概述

细胞是生命活动的基本组成单位。细胞构成各种组织，组织又构成器官，器官再形成系统。人体所有的生命活动都是在细胞中完成的。细胞由以下结构构成。

一、细胞膜

细胞表面的一层单位膜，特称为细胞膜或质膜（plasmolemma，plasma membrane）。人类细胞除了具有细胞膜、核膜外，发达的细胞内膜形成了许多功能区隔。由膜围成的各种细胞器，如核膜、内质网、高尔基体、线粒体等。在结构上形成了一个连续的体系，称为内膜系统（endomembrane system）。内膜系统将细胞质分隔成不同的区域，即所谓的区隔化（compartmentalization）。区隔化是细胞的高等性状，它不仅使细胞内表面积增加了数十倍，各种生化反应能够有条不紊地进行，而且细胞代谢能力也比原核细胞大为提高。

二、细胞核

细胞核（nucleus）是细胞内最重要的细胞器，核表面是由双层膜构成的核被膜（nuclear envelope），核内包含有由 DNA 和蛋白质构成的染色体（chromosome）。间期染色体结构疏松，称为染色质（chromatin）；有丝分裂过程中染色质凝缩、变短，称为染色体。其实染色质与染色体只是同一物质在不同细胞周期的表现。染色体的数目因物种而异，人类染色体正常情况下为 46 条，人类基因组中 99%的遗传物质都存在于细胞核的染色体上。

三、细胞质

存在于细胞膜与核被膜之间的基质称为细胞质（cytoplasm）。细胞质中具有可辨认形态和能够完成特定功能的结构叫做细胞器（organelles）。除细胞器外，细胞质的其余部分称为细胞质基质（cytoplasmic matrix）或胞质溶胶（cytosol），其体积约占细胞质的一半。细胞质基质并不是均一的溶胶结构，其中还含有由微管、微丝和中间纤维组成的细胞骨架结构。其主要作用是为细胞内各类生化反应和物质代谢提供场所和相对稳定的离子环境。细胞中主要的细胞器如下：

（1）内质网（endoplasmic reticulum）：由膜围成一个连续的管道系统。内质网有粗面内质网（rough endoplasmic reticulum，RER）和滑面内质网（smooth endoplasmic

reticulum，SER）之分。粗面内质网表面附有核糖体，参与蛋白质的合成和加工；滑面内质网表面没有核糖体，参与脂类合成。

（2）高尔基体（Golgi body，Golgi apparatus）：由成摞的扁囊和小泡组成，与细胞的分泌活动和溶酶体的形成有关。

（3）溶酶体（lysosome）：是人类细胞中行细胞内消化作用的细胞器，含有多种酸性水解酶。

（4）线粒体（mitochondrion）：由双层膜围成的与能量代谢有关的细胞器，主要作用是通过氧化磷酸化合成 ATP。

（5）细胞骨架（cytoskeleton）：由微管、微丝和中间纤维丝构成，与细胞运动和维持细胞形态有关。

（6）中心粒（centriole）：位于细胞的中心部位，故得名，由相互垂直的两组三联微管组成。中心粒加中心粒周围物质称为中心体（centrosome）。

（7）核糖体（ribosome）：由 rRNA 和蛋白质组成，是细胞中蛋白质合成的场所。

第二节　细胞的分裂和增殖

细胞生长到一定阶段，通过细胞分裂进行增殖，繁衍后代。细胞的分裂分为有丝分裂和减数分裂。有丝分裂是人类及其他真核生物细胞增殖的主要方式。在细胞增殖过程中，母细胞内遗传物质进行复制倍增并平均分配传递给子细胞，保证了每个体细胞的遗传物质相同，维持了亲子细胞之间遗传物质的相对恒定，使所控制的遗传特性保持相对稳定。

一、细胞周期与细胞有丝分裂

人类个体始于 1 个细胞——受精卵。正是由于受精卵不断进行有丝分裂，才形成了多细胞的人体，同时保证了每个体细胞的遗传物质相同。细胞从一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂结束的时期称为一个细胞周期。细胞周期主要包括有丝分裂间期和有丝分裂期两个阶段。其中在间期主要进行遗传物质 DNA 的复制，使细胞的 DNA 含量增加数倍；有丝分裂期则使细胞均匀地一分为二。细胞周期和有丝分裂各期如下所示：

- 细胞周期
  - 有丝分裂间期
    - DNA 合成前期（G_1 期）
    - DNA 合成期（S 期）
    - DNA 合成后期（G_2 期）
  - 有丝分裂期（M 期）
    - 前期
    - 中期
    - 后期
    - 末期

1. 有丝分裂间期

（1）DNA 合成前期（G_1 期）：从上次细胞分裂完成到 DNA 合成开始前的阶段为 G_1 期。G_1 早期由于细胞大量合成 RNA 和进行核糖体组装，导致结构蛋白和酶的形成，这些

酶控制着用于形成新细胞成分的代谢活动。进入 G_1 后期，则主要合成 DNA 复制所需的前体物质和酶类，如脱氧核苷酸及胸苷激酶等。这一时期细胞体积增大，核仁增大。G_1 期是 DNA 合成前的准备时期，也是细胞生长的主要阶段。DNA 含量为 $2C$（2×content）。

（2）DNA 合成期（S 期，DNA synthetic phase）：从 DNA 合成开始到 DNA 合成结束的全过程。S 期是 DNA 进行复制的阶段，使体细胞的 DNA 含量由 $2C$ 增加到 $4C$。此期的主要特点是进行 DNA 复制及合成组蛋白和与 DNA 复制相关的酶。

（3）DNA 合成后期（G_2 期）：从 DNA 合成结束到有丝分裂期开始之前的阶段，是细胞进入有丝分裂前的准备时期。此期的主要特点是有丝分裂促进因子（M-phase promoting factor，MPF）的活化和微管蛋白等有丝分裂器组分的合成，为进入有丝分裂期作准备。人体细胞的 G_2 期一般要经历 2 h～5 h。

2. 有丝分裂期

有丝分裂（mitosis）期（M 期）是 DNA、染色质等已经复制完成的细胞将染色质加工、包装成染色体，并把它们均等地分成两份进而形成两个子细胞的过程。其显著特征是分裂过程中形成有丝分裂器，以确保复制后的染色体一分为二，分别准确地形成两个遗传上完全相同的子细胞。根据该过程出现的细胞形态学特征，可将有丝分裂期划分为前期、中期、后期和末期四个连续的时段。

（1）前期（prophase）：这一时期的主要表现为染色体凝集，分裂极出现和核膜、核仁的解体与消失。

（2）中期（metaphase）：这一时期主要是纺锤体的形成、染色体在纺锤丝牵引下排列在细胞的赤道面上，形成赤道板。纺锤体是由微管在两极的中心粒之间纵向排列组成的纺锤状的结构。

（3）后期（anaphase）：染色体的着丝粒一分为二，姐妹染色单体彼此分离，标志着后期的开始。染色单体分离后，在纺锤丝的牵引下分别移向两极。关于染色体向两极移动的机制，目前一般认为，其动力来源于动粒微管一端（染色体动粒部位）不断解聚，使染色体微管缩短；同时，极间微管聚合、伸长，导致两极的远离。这两种作用的结果，使染色体移向两极。

（4）末期（telophase）：是细胞核重新形成，细胞质发生分裂并形成两个子细胞的阶段。两组子染色体到达细胞两极，开始去凝集，伸展变为细丝，最终恢复成染色质状态。同时，细胞核纤层蛋白去磷酸化，子细胞核核膜重新形成。染色质上的核仁组织区也开始进行 rRNA 转录，进行核糖体亚单位的装配，核仁重新出现。

细胞质分裂（cytokinesis）是有丝分裂的最后一个环节。两个子细胞核形成后，细胞膜从中部凹陷（缢缩）形成分裂沟，继而细胞质分割成两部分，形成两个子细胞。

二、减数分裂

减数分裂（meiosis）是生殖细胞精子或卵子发生过程中进行的一种特殊的有丝分裂。精母细胞和卵母细胞只进行一次 DNA 复制而发生两次连续的细胞分裂，因此其所形成的配子中染色体数目减少一半。减数分裂在有性生殖中具有重要意义：一方面单倍体的精子、卵子通过受精过程形成二倍体的受精卵，子代的染色体数目恢复到与亲代相同，保持子代与亲代的遗传稳定性；另一方面，在减数分裂过程中，由于同源染色体的联会和分离、同源染色体之间的交换，产生染色体重组，以及非同源染色体的自由组合，大大增加了生殖细胞中染色体组成的差异，增加了生物变异的范围和频率，在进化上具有重要作用。减数分裂过程中

染色体的传递规律是遗传规律的细胞学基础。

减数分裂过程的基本特点是 DNA 复制一次，细胞连续分裂两次。

1. 减数分裂Ⅰ

减数分裂Ⅰ（第一次分裂）由初级精母细胞或初级卵母细胞形成次级精母细胞或次级卵母细胞。

（1）前期Ⅰ：分为 5 个时期。①细线期（leptotene stage）：染色体完成复制，开始凝集。②偶线期（zygotene stage）：同源染色体侧面紧密相贴，发生配对，此现象称为联会（synapsis）。联会的染色体是专一性的，即只有同源染色体才相互识别并配对，形成联会复合体（synaptonemal complex，SC）。配对的两条同源染色体分别由 4 条染色单体组成，称为四分体（tetrad）。③粗线期（pachytene stage）：又称重组期。同源染色体配对后，染色体明显变短、变粗，结合紧密，同源染色体之间发生 DNA 交换，导致染色体重组。④双线期（diplotene stage）：联会复合体逐渐消失，同源染色体逐渐分开，但仍有几点相连。人类卵巢中的卵母细胞在胚胎 5 个月时即达到这一阶段，直到性成熟排卵之前，每月一次的卵成熟，是从该期进入减数分裂的其余阶段。⑤终变期（diakinesis）：染色体变成紧密凝集状态，核仁消失，染色体凝集成短棒状，开始形成纺锤体。

（2）中期Ⅰ：核膜破裂，分散于核中的四分体在纺锤丝作用下向纺锤丝中部移动，最后排列到赤道板上。

（3）后期Ⅰ：同源染色体分离并向两极移动，每一极获得单倍数量的染色体，每条染色体含有 2 条染色单体。同时，非同源染色体在分向两极时相互独立，父方和母方来源的非同源染色体实现了自由组合。

（4）末期Ⅰ：新的核膜重新形成，纺锤体消失，形成两个子细胞核，每个核中的染色体数目比体细胞减少了一半，但遗传物质的总量与体细胞相同，因为此时的每条染色体由两条染色单体组成，并由同一着丝粒相连。

2. 减数分裂Ⅱ

减数分裂Ⅱ（第二次分裂）由次级精母细胞或次级卵母细胞形成精细胞或卵细胞。细胞内染色体是单倍体。

第一次分裂完成后，并不进行 DNA 的复制，而是直接进入又一次分裂。其基本过程与有丝分裂期基本相同，包括纺锤体的重新形成，每个细胞核中的姐妹染色体排列到赤道板上，姐妹染色体在纺锤丝作用下分开并移向两极，最后由一个性母细胞核形成 4 个子代细胞核。在精子发生过程中，4 个核均被细胞质所包围，并最终发育成 4 个成熟的精子（如图 3－1所示）；在卵子发生过程中，细胞质则从第一次分裂时就发生不等分配，第二次分裂时继续发生细胞质的不等分配，最终形成 1 个卵细胞和 3 个极体（如图 3－2 所示）。

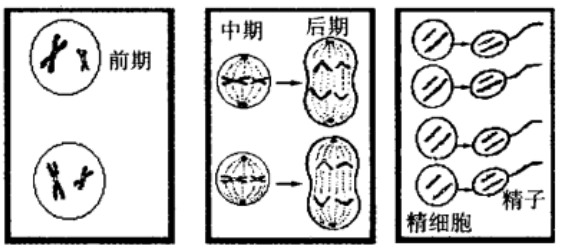


图 3－1　减数分裂模式图，示精子发生过程

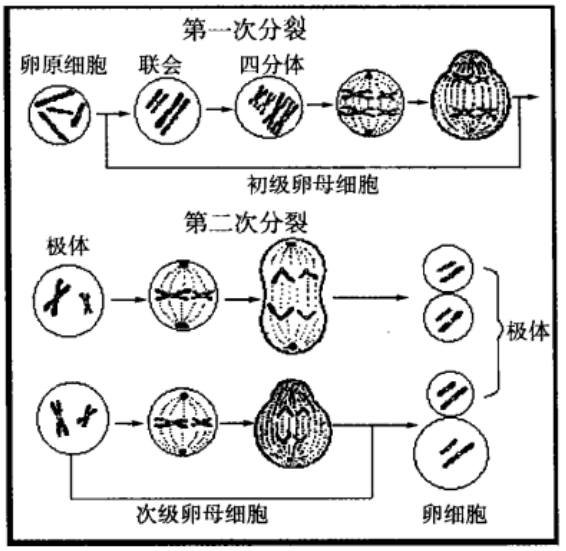


图 3－2 减数分裂模式图，示卵子发生过程

第三节 人类染色体

1848 年，Hofmeister 从鸭跖草的小孢子母细胞中发现染色体。1888 年，Waldeyer 正式将其定名为 Chromosome。1879 年，W. Flemming 提出了染色质（chromatin）这一术语，用以描述染色后细胞核中强烈着色的细丝状物质。在细胞间期细胞核中呈细丝状的核蛋白物质称为染色质；在细胞分裂期，细丝状核蛋白物质经多级螺旋化形成条状或棒状的特定形态，称为染色体。染色质和染色体是同一物质在不同细胞周期中所表现的两种不同的形态表现。

一、人类染色质的化学组成

染色质由 DNA、组蛋白、非组蛋白及少量 RNA 组成，比例为 1∶1∶（1～1.5）∶0.05。可见 DNA 与组蛋白的含量比较恒定，非组蛋白的含量变化较大，RNA 含量最少。染色体具有 3 个基本元素：①自主复制序列（autonomously replicating DNA sequence，ARS），是 DNA 复制的起点；②着丝粒序列（centromere DNA sequence，CEN），由大量串联的重复序列组成，如 α 卫星 DNA，其功能是参与形成着丝粒，使细胞分裂中染色体能够准确地分离；③端粒序列（telomere DNA sequence，TEL），不同生物的端粒序列都很相似，由长 5 bp～10 bp 的重复单位串联而成，人的重复序列为 GGGTTA。

二、人类染色体的结构和数目

染色体是遗传物质的载体，是细胞遗传学的核心研究对象之一。每个人体细胞中的染色体数目是恒定的。Hsu（1952 年）将组织培养技术应用于染色体的研究。Tjio 与 Levan（1956 年）对流产胎儿肺组织培养，加秋水仙素及低渗处理，在人类的染色体观察中首先发

现人的染色体为 46 条。人类男性为 46,XY；女性为 46,XX。自 Moorhead（1960 年）发表外周血白细胞培养与染色体制备方法以来，使染色体制备有了良好的方法，从此染色体分析技术得到了迅速的普及。

近年来，染色体检查及系谱分析已成为临床检查中不可缺少的手段之一。人类染色体分析将处于分裂中期细胞的染色体在显微镜下放大或摄入计算机，再将各染色体逐个进行分析。目前，已知人类遗传病中由于染色体异常而引起的疾病有 100 多种。

1. 常染色质与异染色质

间期染色质分散于细胞核中，根据间期细胞核中染色质的形态可以将其分为两类：常染色质与异染色质。

（1）常染色质（euchromatin）：是间期核中结构较为疏松的染色质，呈解螺旋化的细丝纤维，螺旋化程度低，染色较浅，为有功能的染色质，能活跃地进行转录或复制，在一定程度上控制着间期细胞的活动。电镜下可见其均匀分布于细胞核内，多位于细胞核中央部位和核孔的周围。

（2）异染色质（heterochromatin）：是间期核中结构紧密的染色质，螺旋化程度高，碱性染料着色深，转录不活跃，呈各种不同的深染纤维、颗粒状团块散布在整个细胞核中，常分布于核的边缘，或贴在核膜的内表面。异染色质又可以分为结构异染色质和兼性异染色质（facultative heterochromatin）。结构异染色质是指各种类型的细胞中，除复制期以外，在整个细胞周期均处于凝聚状态的染色质。兼性异染色质是指在一定的细胞类型或在一定的发育阶段，由常染色质凝集，并丧失基因转录活性转变而成；在一定条件下，兼性异染色质又可以向常染色质转变，恢复转录活性。

常染色质和异染色质在化学本质上没有任何差别，在结构上也是连续的，它们是同一物质，即染色体的两种不同存在状态。常染色质在一定条件下可以转变为兼性异染色质。

常染色质与异染色质的螺旋化程度、所含的 DNA 序列与功能等不同；复制时间也有差异，常染色质在 S 期的较早时期复制，而异染色质在 S 期的较晚时期复制。

2. 染色体形态和结构的相关术语

在细胞分裂期，染色质通过盘旋折叠压缩近万倍，包装成大小不等、形态各异的短棒状染色体。中期染色体的形态最典型、最容易辨认和区别，是观察染色体形态和计数的最佳时期，常用于染色体研究及染色体病的诊断。

（1）染色单体（chromatid）：中期染色体由两条相同的染色单体组成，彼此互称为姐妹染色单体。两者在着丝粒的部位相互结合，每一条染色单体是由一条 DNA 双链经过螺旋和折叠而形成的。到后期，着丝粒分裂，两条染色单体分离。

（2）主缢痕（primary constriction）：指中期染色体上一个染色较浅而缢缩的部位。主缢痕处有着丝粒，所以亦称着丝粒区。由于这一区域染色体的螺旋化程度低、DNA 含量少，所以染色很浅或不着色。根据着丝粒的位置将染色体分为三类（如图 3－3 所示）：中央着丝粒染色体（metacentric chromosome）、亚中着丝粒染色体（submetacentric chromosome）、近端着丝粒染色体（telocentric chromosome）。着丝粒将染色体分为短臂（代表符号为 p）和长臂（代表符号为 q）。

（3）次缢痕（secondary constriction）：除主缢痕外，染色体上第二个呈浅缢缩的部分称次缢痕。次缢痕的位置相对稳定，是鉴别染色体的一个显著特征。

（4）随体（satellite）：指位于染色体末端的球形染色体节段，通过次缢痕区与染色体主

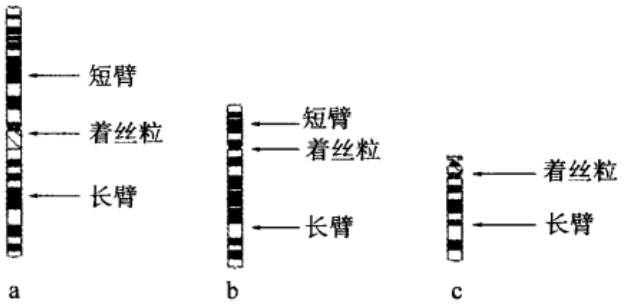


图 3－3 中央着丝粒（a）、亚中着丝粒（b）、近端着丝粒（c）染色体

体部分相连。位于染色体末端的随体称为端随体，位于两个次缢痕中间的称为中间随体。

（5）端粒（telomere）：是染色体端部的特化部分，其生物学作用在于维持染色体的稳定性和完整性。在正常情况下，染色体末端彼此之间不会发生相接。但当染色体发生断裂而端粒丢失后，染色体的断端可以彼此粘连相接，形成异常染色体。如果用 X 射线将染色体打断，不具端粒的染色体末端有黏性，会与其他片段相连或两端相连而成环状。端粒由高度重复的短序列串联而成，在进化上高度保守，不同生物的端粒序列都很相似，人的序列为 GGGTTA。端粒起到细胞分裂计时器的作用，端粒核苷酸复制和基因 DNA 不同，在基因 DNA 每复制一次端粒减少 50 bp～100 bp。端粒的复制要靠具有反转录酶性质的端粒酶（telomerase）来完成，正常体细胞缺乏此酶，故随细胞分裂而变短，细胞随之衰老。

每条染色体最主要的形态特征是染色体的相对长度和着丝粒的位置。

人类染色体一般都以丹佛（1960 年）、伦敦（1960 年）和芝加哥（1966 年）会议提出的标准（如图 3－4 所示），按染色体的长度递减顺序和着丝粒位置的特点，分为 23 对 7 组。其中，1～22 对是男、女性所共有的，称常染色体（autosome）。另一对是男、女性所不同的，称性染色体（sex chromosome）。并将 X 染色体列入 C 组，Y 染色体列入 G 组（如图 3－5所示）。

A 组（1～3 号）：1 号和 3 号均为中央着丝粒染色体，2 号为亚中着丝粒染色体。

B 组（4～5 号）：两对染色体都是次大的亚中着丝粒染色体。

C 组（6～12 号，X）：此组染色体均为亚中着丝粒染色体。6、7、9、11 号染色体的着丝粒比较近中一些。X 染色体的大小在 8 号和 9 号染色体之间。

D 组（13～15 号）：均为大的近端着丝粒染色体，短臂上常连有随体。

E 组（16～18 号）：16 号为中央着丝粒染色体，17、18 号均为小的亚中着丝粒染色体，18 号短臂较 17 号短。

F 组（19～20 号）：均为小的中央着丝粒染色体。

G 组（21～22 号，Y）：最小的近端着丝粒染色体。22 号染色体较 21 号大，短臂常连随体。Y 染色体大小不定，短臂无随体，两臂常平行紧靠。

3. 核型与带型

早期对染色体的研究主要采用组织切片的方法。由于染色体经常不处于同一平面，因此很难对染色体进行观察和计数，以致对人类到底有多少条染色体这样的问题一直争论到 1956 年才得以确认。20 世纪 60 年代末至 70 年代发展起来的各种染色体分带技术，使染色体的研究进入了一个黄金时代，为人类遗传病的鉴定、物种的亲缘关系与进化研究、遗传育种等方面提供了重要的依据。

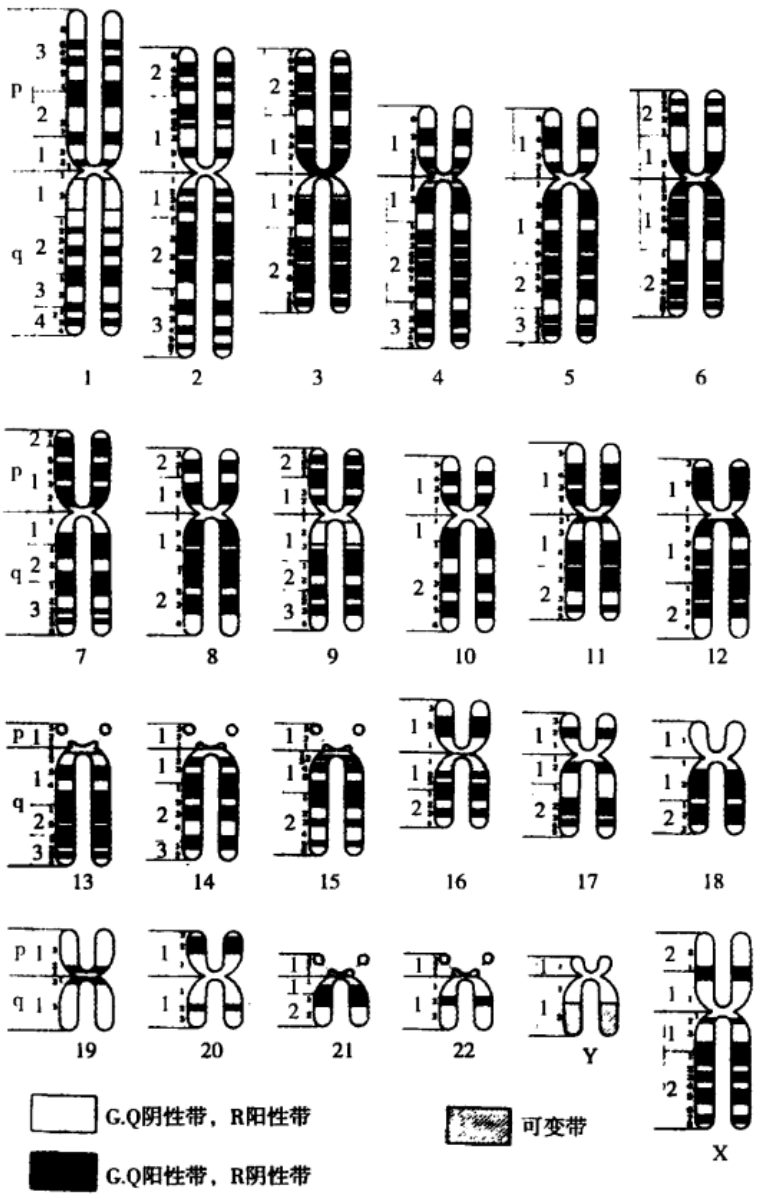


图 3－4　G 显带染色体标准模式图

（ISCN，1971）

核型（karyotype）是指一个体细胞中全部染色体，按其大小、形态特征顺序排列所构成的图像（又称为核型图，karyogram）。对这些图像进行染色体数目、形态结构特征的分析称为核型分析。在完全正常的情况下，一个体细胞的核型一般可代表该个体的核型。根据一个群体中一些正常个体的体细胞的核型分析，综合绘制而成的模式化核型图，称为染色体组型（idiogram），代表一个物种的染色体组成和模式特征。

染色体分带技术是经物理、化学因素处理后，再用染料对染色体进行分化染色，使其呈现特定的深浅不同带纹（band）的方法。分带技术可分为两大类：一类是产生的染色带分布在整个染色体的长度上，如 G（如图 3－6 所示）、Q（如图 3－7 所示）和 R 带；另一类是局部性的显带，它只能使少数特定的区域显带，如 C（如图 3－8 所示）、Cd、T 和 N 带。

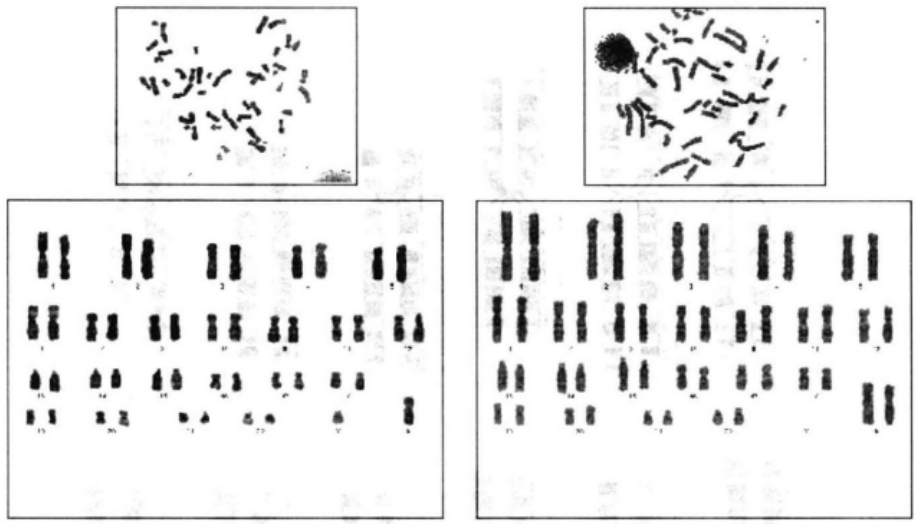


图 3－5　正常男性（左）和正常女性（右）的中期染色体及核型

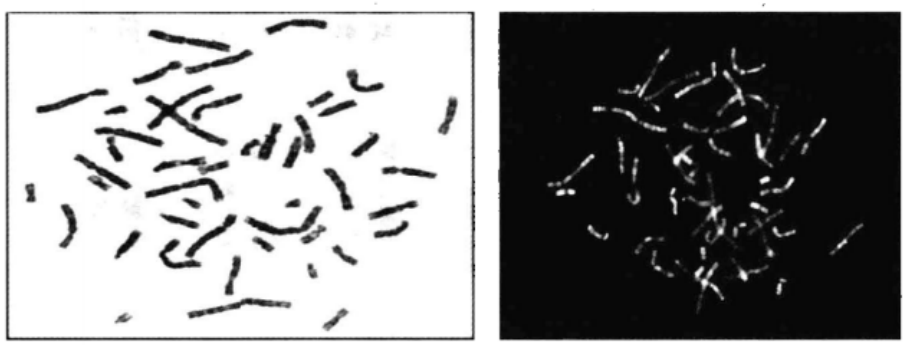


图 3－6　G 显带（左）和 R 显带（右）的中期染色体

注：G 带显示的是染色体上富含 AT 的区域。

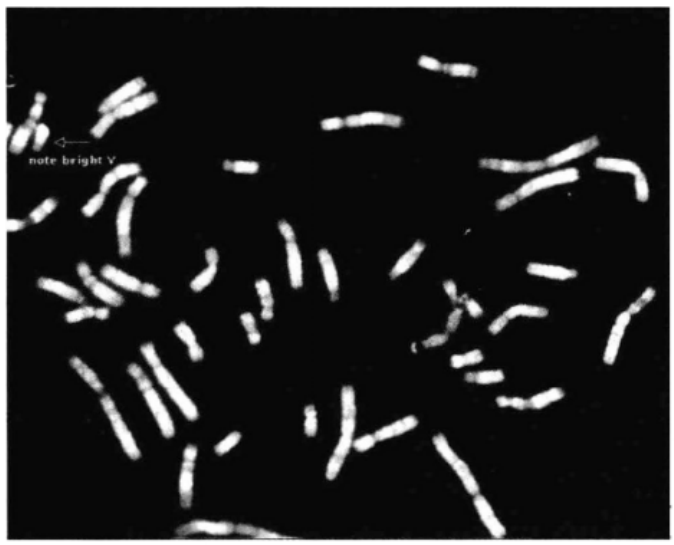


图 3－7　人类 Q 带核型

注：Q 带显示的带纹与 G 带相似。

图 3－8　人类 C 带核型

注：C 带显示的是着丝粒异染色质。

按照巴黎会议将染色体的恒定而显著的结构如着丝粒及显著的染色体带被作为界标(land-marks)。一个界标将染色体分区，染色体的任何一区，均分布在相邻的界标之间。每一条染色体区与带号是从靠近着丝粒区沿两臂向外依次排列的，即靠近着丝粒区为“1”，较远分别为“2”，“3”，…，“n”，如此类推。例如，$9q^{32}$，9 表示染色体号数，q 为长臂，3 为区号，2 为带号。

在染色体识别过程中，人们目前普遍采用人类细胞遗传学国际命名体制 ISCN（1995）的标准。该标准是一个包括 1960、1963、1966、1971、1978、1981、1985 和 1995 年共八次人类细胞遗传学国际命名委员会所制定的国际法规。为了简便描述人类染色体及畸变，经常会用到以下缩语符号：

p	染色体短臂	ace	无着丝粒断片
q	染色体长臂	dic	双着丝粒染色体
h	副缢痕	tri	三着丝粒染色体
i	等臂染色体	cen	着丝粒
r	环状染色体	del	缺失
t	易位	dup	重复
mar	标记染色体	ins	插入
mat	来自母亲	pat	来自父亲
invins	反向插入	:	断裂
rcp	相互易位	end	内复制
rob	罗伯逊易位	::	断裂与重接
rec	重组染色体	→	从…到…
tan	串联（衔接）易位	+	增加
ter	末端	−	减少
s	随体	mos	嵌合体
SCE	姐妹染色单体交换		

对于核型的表达，首先写出染色体的总数，随之为逗号“,”，再写出性染色体的组成。若为常染色体数目或结构的异常，则加上逗号，再写明这些特殊改变的情况。例如：

46,XY 表示染色体总数为 46 条，性染色体为 XY。

45,X 表示 45 条染色体，只有一条 X 染色体，即少了一条性染色体。

47,XXY 表示 47 条染色体，性染色体为 XXY。

47,XY+21 表示 47 条染色体，性染色体为 XY，第 21 号染色体多了一条。

46,XX,1q+ 表示 46 条染色体，性染色体为 XX，1 号染色体长臂增加。

4. X 染色质与 Y 染色质

(1) X 染色质与莱昂假说。1949 年 Barr 等人在雌猫的神经元细胞核中发现一种浓染小体，直径为 1 μm，但雄猫中却没有这种结构。进一步的实验观察证实，在几乎所有的雌性哺乳动物（包括人类）的间期核都有这种具有性别差异的结构，被称为 X 染色质（X chromatin），也称 Barr 小体（Barr body）。

临床研究发现，女性两条 X 染色体上每个基因座的一对等位基因所形成的产物并不比只有一条 X 染色体的男性多。1961 年，Mary Lyon 提出了 X 染色体失活假说，即莱昂假说（Lyon hypothesis）。该假说认为：①女性体细胞内的两条 X 染色体中仅有一条 X 染色体是有活性的，另一条 X 染色体在遗传上是失活的，在间期细胞核中高度螺旋化呈异固缩状态，即 X 染色质；②X 染色体失活发生在胚胎早期，在妊娠后第 16 天以前，女性所有细胞的 X 染色体都是有活性的，第 16 天后发生 X 染色体失活；③X 染色体的失活是随机的，女性的两条 X 染色体分别来自父亲和母亲，失活的 X 染色体可以来自父亲，也可以来自母亲。但是，一旦细胞内的一条 X 染色体失活，那么由此细胞增殖产生的所有子代细胞也总是这一条 X 染色体失活，即如果某一细胞的父源 X 染色体失活，则其子细胞中失活的 X 染色体也是父源的。

由于 X 染色体失活，间期核内 X 染色质数目等于 X 染色体数目减一。正常女性的一条 X 染色体失活，无转录活性，就使得 X 染色体连锁的基因产物的量或酶的活性在男性和女性细胞或机体中保持相同水平，这种效应称 X 染色体的剂量补偿（dosage compensation）。但需要指出，失活的 X 染色体上的基因并非全部失活，一部分基因仍保持转录活性。所以，X 染色体数目异常的个体可表现出一定的临床症状。

(2) Y 染色质。正常男性的间期细胞用荧光染料染色后，在细胞核内可见一个圆形或椭圆形，直径为 0.3 μm 的强荧光小体，称 Y 染色质（Y chromatin）。其为男性间期细胞特有的结构，是 Y 染色体长臂远端第 3 区段的异染色质，细胞中 Y 染色质的数目与 Y 染色体数目相同。

X 染色质和 Y 染色质的检查为临床遗传性别的鉴定提供了便捷的方法。

三、人类染色体的畸变

正常人体细胞为 2 倍体，染色体数目为 46 条；精子和卵子为单倍体，染色体数目各为 23 条。染色体畸变是染色体病形成的根本原因。染色体畸变分为数目畸变和结构畸变两大类。染色体畸变可自发产生，也可由外界因素诱发产生。已知许多因素可能造成染色体畸变，包括物理因素、化学因素、生物因素、遗传因素和母亲年龄等。

（一）染色体数目畸变

1. 整倍性改变

整倍性改变指染色体成倍增加或减少，增加或减少的倍数以 n 为基数。

(1) 多倍体：指染色体数目增加了一套或数套，即含有 3 个或 3 个以上的染色体组的细

胞或个体。三倍体细胞是有 3 个染色体组，每对染色体都增加了一条，染色体总数为 69（$3n$）。四倍体细胞则含有 4 个染色体组，染色体总数为 92（$4n$），依次类推。当一个个体全身体细胞均为三倍体时是致死性的，故在活婴中极为罕见。存活者多为二倍体和三倍体的嵌合体。在临床上四倍体则更为罕见。在流产的胚胎中，三倍体较为常见，因此认为多倍性是造成流产的重要原因。

（2）单倍体：染色体数为 n，即每对染色体都只含有一个，染色体总数为 23 条。人类的精子和卵子属于单倍体，人类单倍体胎儿或新生儿尚未发现。

2. 非整倍性改变

非整倍性改变指染色体数量不是成倍增加或减少，而是在 $2n$ 的基础上增加或减少一条或几条。当体细胞中的染色体数量少于二倍体时，如染色体数为 44，45 条，称亚二倍体（hypodiploid）。当体细胞中的染色体数量多于二倍体时，如染色体数为 47，48 条，称超二倍体（hyperdiploid）。同理，63，65 少于三倍体（$3n=69$），称亚三倍体。在癌细胞中可找到许多不同的染色体数目，称为无众数非整倍体。

（1）单体：某对染色体减少了一条（$2n-1$），细胞内染色体总数为 45。常见的有 45，X；45，XX（XY），－21；45，XX（XY），－22 等。

（2）三体：某对染色体增加了一条（$2n+1$），细胞内染色体总数为 47，这是目前发现的人类染色体数目异常中占最多的一类，几乎涉及每一号染色体。常染色体中以 21 三体常见，性染色体中有 XXX、XXY、XYY 三种。

（二）染色体结构畸变

许多理化及生物因素可引起染色体断裂，产生两个或多个节段，如果这些片段在原来的位置上重新接合，则称为染色体的自我愈合，染色体恢复正常。如果这些片段重接时发生了错误连接，形成了不同的染色体片段重组，则会导致染色体结构上的畸变。常见的染色体结构畸变有以下几种：

1. 缺失

缺失（del）指染色体部分丢失。

（1）末端缺失：染色体长臂或短臂的末端部分丢失，如 46，XX，del(2)(q23) 或46，del(2)(pter→q21：)。

（2）中间缺失：一条染色体在短臂或长臂上发生两次断裂，形成了三个片断，中间片段丢失，远侧片段和近侧片段又重复结合，形成中间缺失，如 46，XX，del(2)(q11q21)或 46，XX，del(2)(pter→q11：q21→qter)。

（3）环状染色体（r）：一条染色体两臂同时发生断裂，两末端缺失，含有着丝粒的中间部分重新连接，形成环状染色体，如 46，XY，r(2)(p21；q11) 或 46，XY，r(2)(p21→q11)。

2. 重复

重复（dup）指染色体上部分重复，这是由于相互易位或插入的结果。重复又分正位的（direct）或颠倒的（inverted）重复，如 46，XX，inv dup(2)(p23→p14)或 46，XY，inv dup (2)(pter→p23：：p14 →p23：：p14→qter)。

3. 倒位

两次断裂后，断裂的片段倒转 180°重新连接，形成倒位（inv）。它又分臂内倒位和臂间倒位，如 46，XX，inv(2)(p15；p24)或 46，XY，inv(2)(pter→p24：：p15→p24：：p15→qter)；46，XY，inv(2)(p21；q11)或 46，XY，inv(2)(pter→p21：：q11→p21：：q11→qter)。

4. 易位

两条及两条以上染色体的断裂产生的染色体片段位置的改变叫易位（t）。易位又分相互易位和罗伯逊易位。

（1）相互易位：两条染色体发生断裂后相互交换其无着丝粒断片，形成两条新的衍生染色体，叫相互易位，如 46,XY,t(2;5)(q21;q31)或 46,XY,t(2;5)(2 p21→2 q21::5q31→5qter; 5pter→5q31::2 q21→2 qter)。

（2）罗伯逊易位：两条近端着丝粒染色体在着丝粒处（或其附近）断裂后又相互连接并形成两条衍生染色体时，叫罗伯逊易位，如 45,XX,t(13;14)(p11;q11)或 45,XX,t(13;14)(13 qter→13p11::14q11→14qter)。

5. 双着丝粒染色体

当两条染色体断裂后，具有着丝粒的两条染色体片段相连，形成一条双着丝粒染色体(dic)，如 46,X,dic(Y)(q12)或 46,X,dic(Y)(pter→q12::q11→pter)。

6. 等臂染色体

等臂染色体（iso）指两个遗传上和形态上相同的臂的单着丝粒染色体，如 46,X,i(Xq)或 46,X,i(X)(qter→cen→qter)。

7. 复杂易位

复杂易位指三个以上染色体断裂发生的相互易位，如 46,XX,t(2;5;7)(p21;q23;q22)或 46,XY,t(2;5;7)(2qter→2p21::7 q22→7qter; 5pter→5q23::2p21→2pter; 7pter→7q22::5q23→5qter)。

思考题

1. 简述细胞的结构。
2. 有丝分裂和减数分裂有何区别？
3. 简述人类染色体的结构及畸变类型。

（丁显平）

第四章　人类遗传的分子基础

第一节　核酸的结构、特性和功能

1868年，瑞士的内科医生Friedrich Miescher从外科医院包扎伤口的绷带上的脓细胞核中提取到一种富含磷元素的酸性化合物，将其称为核质（nuclein）；后来他又从鲑鱼精子中分离出类似的物质，并指出它是由一种蛋白质与一种酸性物质组成的，此酸性物质即是现在所知的核酸（nucleic acid）。自然界中所有生物的细胞内都存在核酸，核酸分为两类：一类是脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA），主要存在于细胞核内，少量存在于线粒体中；另一类称为核糖核酸（ribonucleic acid，RNA），主要存在于细胞质中。1953年Watson和Crick创立的DNA双螺旋结构模型，不仅阐明了DNA分子的结构特征，而且提出了DNA作为执行生物遗传功能的分子，从亲代到子代的DNA复制（replication）过程中，遗传信息的传递方式及高度保真性，为遗传学进入分子水平奠定了基础，成为现代分子生物学发展史上最为辉煌的里程碑。

一、核酸的化学组成和分子结构

核酸是生物体内的高分子化合物，包括DNA和RNA两大类。

1. 核酸的化学组成

组成核酸的元素有C、H、O、N、P等，其中N含量为15%～16%，磷含量为9%～10%。由于核酸分子中的磷含量比较恒定，因此，核酸定量测定的经典方法是以测定磷含量代表核酸量。

核酸经水解可得到多个核苷酸分子，因此核苷酸是核酸的基本单位，核酸就是由很多单核苷酸聚合形成的多核苷酸，核苷酸可被水解产生核苷和磷酸，核苷还可进一步水解而产生戊糖和碱基。因此，核酸是由含氮碱、戊糖及磷酸三种成分组成的。

核酸中的含氮碱简称碱基，是嘌呤碱（purine）与嘧啶碱（pyrimidine）的衍生物。RNA和DNA含有的共同碱基成分是腺嘌呤（adenine，A）、鸟嘌呤（guanine，G）和胞嘧啶（cytosine，C）。二者的区别是RNA含有尿嘧啶（uracil，U），而DNA含有胸腺嘧啶（thymine，T）。嘌呤和嘧啶都有酮—烯醇式互变异构现象，一般生理pH条件下呈酮式。它们的结构如图4－1所示。

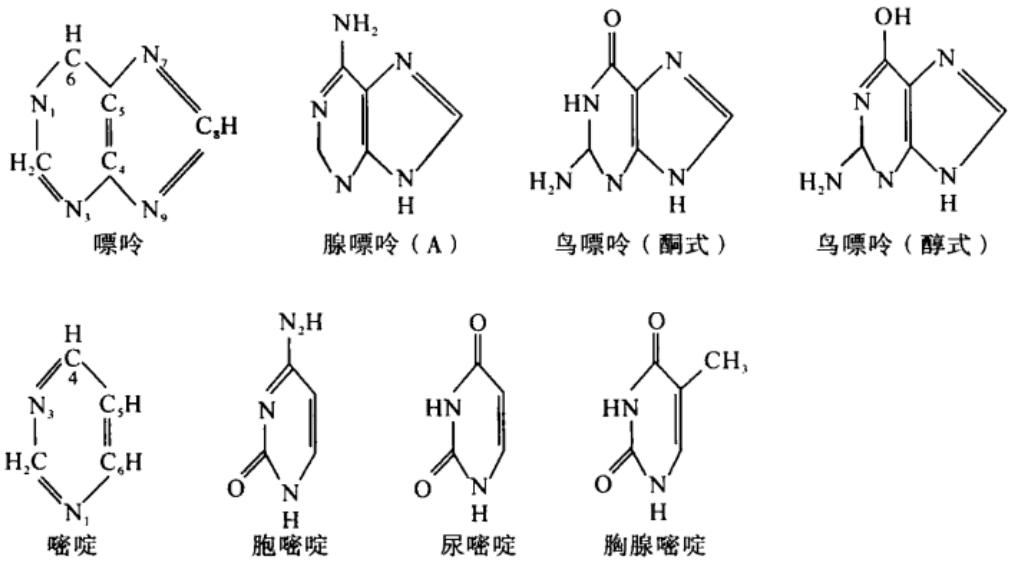


图 4－1　嘌呤和嘧啶碱的分子结构

有些核酸中含有修饰碱基（或稀有碱基）。这些碱基大多是在上述嘌呤或嘧啶碱的不同部位甲基化（methylation）或进行其他的化学修饰而形成的衍生物。例如，有些 DNA 分子中含有 5－甲基胞嘧啶（m^5C）和 5－羟甲基胞嘧啶（hm^5C）；某些 RNA 分子中含有 1－甲基腺嘌呤（m^1A）、2，2－二甲基鸟嘌呤（m_2^2G）和 5,6－二氢尿嘧啶（DHU）等。DNA 和 RNA 的化学组成见表 4－1。

表 4－1　DNA 和 RNA 的化学组成

	RNA	DNA
嘌呤碱	腺嘌呤，鸟嘌呤	腺嘌呤，鸟嘌呤
嘧啶碱	胞嘧啶，尿嘧啶	胞嘧啶，胸腺嘧啶（或 5－甲基胞嘧啶）
戊　糖	核　糖	脱氧核糖
磷　酸	磷　酸	磷　酸

嘌呤碱和嘧啶碱一般多不易溶于水，对 250 nm～280 nm 波长的紫外光有较强的吸收，对 260 nm 光波的吸收能力最大。由于碱基是核酸的基本组成成分，因此，所有核酸（包括 DNA 和 RNA）的共同特点是对 260 nm 波长的紫外光有最大的吸收值。

2. 核酸的一级结构

核酸又称多核苷酸，组成 DNA 的脱氧核糖核苷酸主要为四种，即 dAMP、dGMP、dCMP 和 dTMP；组成 RNA 的核糖核苷酸主要有 AMP、GMP、CMP 和 UMP 四种。对两种核酸的组成可简写如下：

DNA＝（碱基－脱氧核糖－磷酸）n；RNA＝（碱基－核糖－磷酸）n

核酸中核苷酸的连接方式为：一个核苷酸 C－3′上羟基与下一个核苷酸 C－5′连接在磷酸羟基上脱水缩合成酯键，称 3′，5′磷酸二酯键，若干个核苷酸间依 3′，5′磷酸二酯键连接成长链的大分子即为核酸。此长链称多核苷酸链，在链的一端的核苷酸上，其 C－5′连接的磷酸仅一个酯键，称此核苷酸为链的 5′磷酸末端或 5′。在链的另一端核苷酸上 C－3′上羟基

是自由的，对此核苷酸称为3′羟基末端或3′端，链内的核苷酸在C－5′上磷酸已形成二酯键。C－3′上羟基也已参与二酯键的形成，故称核苷酸残基。

核酸的一级结构指其核苷酸链中核苷酸的排列顺序，由于核酸中核苷酸彼此之间的差别在于碱基部分，故核酸的一级结构即指核酸分子中碱基的排列顺序。

3. 核酸的高级结构

核酸的多核苷酸链在次级键的基础上，还可形成更为复杂的二级及三级的高级结构。

（1）DNA二级结构：1953年Watson及Crick在化学分析及X光衍射法观察DNA结构的基础上提出了著名的DNA双螺旋结构模型（double helix model）。此结构是在核酸一级结构基础上形成的更为复杂的高级结构，即DNA的二级结构，结构如图4－2所示。

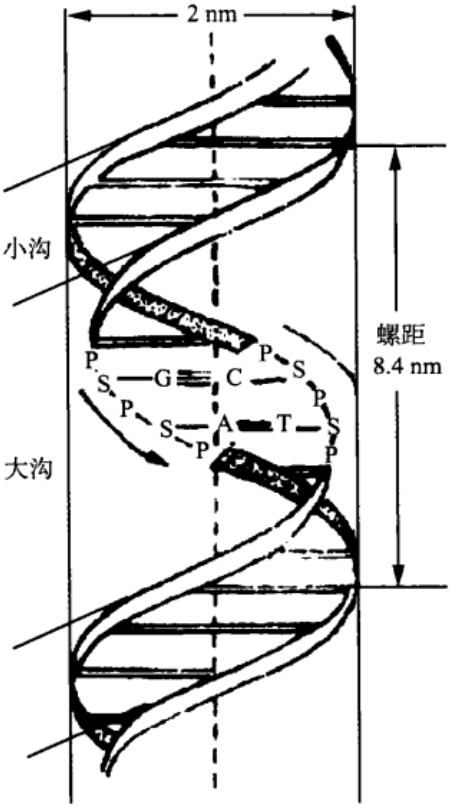


图4－2　DNA的双螺旋结构

P：磷酸基；S：脱氧核糖；G：鸟嘌呤；A：腺嘌呤；T：胸腺嘧啶；C：胞嘧啶。

DNA的二级结构即双螺旋结构，其内容可归纳为：DNA分子为两条多核苷酸链以一共同轴为中心，盘绕成右手双螺旋结构，螺旋直径约2 nm。螺旋盘绕形成链间的两种沟，即宽的大沟与狭窄的小沟；两条多核苷酸链的走向相反，通常取左侧链从上到下为5′→3′端，右侧链从下向上为5′→3′端，这样两条链构成反向平行排列的双螺旋；两条多核苷酸链借氢键连接在一起。氢键是一链碱基上－NH_2的氢与另一链上碱基的氧或氮形成。A和T碱基之间有两个氢键，G与C之间有三个氢键。这种相配关系称为碱基互补或碱基配对。配对的碱基处于同一平面，此平面与双螺旋的中心轴垂直，由于两条链中碱基互补，所以二链彼此又称为互补链；碱基对之间氢键的能量为3 kcal/mol～7 kcal/mol，由于氢键多，所以可维系DNA双链结构。另外，碱基对彼此间距离为0.34 nm，每一螺旋含10个碱基对，故螺距为3.4 nm，相邻碱基对间彼此尚有范德华（van der Waals）力作用（此力量为1 kcal/mol～2 kcal/mol，作用范围为0.5 nm）。此能量虽弱，但由于碱基对多，合力也就大。可见碱基对的氢键及碱基对之间的范德华力是稳定DNA成双螺旋结构的主要能量。

DNA双螺旋结构阐明的重要意义在于第一次提出了遗传信息是以DNA分子中核苷酸的排列顺序为储存方式，从而说明了天然遗传信息的复制过程。

（2）DNA的三级结构：已发现线粒体、叶绿体、细菌、质粒及一些病毒的DNA双螺旋分子还可形成封闭环状结构，天然状态的环状DNA分子多扭曲成麻花状的超螺旋结构（superhelix），这些比螺旋更为复杂的结构即DNA分子的三级结构。

人类细胞核中的DNA具有一种超螺旋结构，即DNA双螺旋盘绕在组蛋白上形成核小体（nucleosome）。核小体是染色质（chromatin）的核心小粒，由有140个碱基对的双螺旋DNA缠绕于由组蛋白（H2A、H2B、H3及H4各二分子）组成的八聚体外面，这一DNA

股由此形成直径为 9 nm 的超螺旋 1.75 圈。此核小体又经 60 个碱基对的 DNA 双螺旋及组蛋白 H1 形成细丝（间隔区）与下一个核小体相连接。核小体的 DNA 双螺旋为 200 个碱基对，长度应为 68 nm（0.34 nm×200＝68 nm），但实际长度只有 10 nm，说明 DNA 双螺旋链进一步螺旋化盘绕在组蛋白八聚体上，其长度压缩了 7/8。在细胞间期，DNA 双螺旋与一些组蛋白结合，以染色质的形式存在；在细胞分裂期，它们可以进一步盘旋成螺丝管或超螺丝管，最终缠绕成染色单体。

4. RNA

RNA 分子也是由核苷酸依 3′，5′磷酸二酯键形成的多核苷酸链。RNA 总是以单链的形式存在，也有 5′磷末端及 3′羟基末端。RNA 单链的局部折叠成的某一片段的 A 及 G 分别与另一片段的 U 及 C 配对常形成发卡结构（hairpin structure）。在此结构内的碱基无需全部配对，而配对部位形成小的双螺旋区域，不能配对的碱基则连成小环从螺旋区中被圈出来。这种 RNA 单链局部小双螺旋结构即是 RNA 的二级结构。

二、DNA 的特性和功能

研究证明，DNA 是遗传物质，具有化学稳定性、高度复杂性、自我复制性和可变异性。DNA 在自然状态下非常稳定，只有在强酸作用下才发生降解。核酸的主要功能是储存和传递遗传信息。虽然 DNA 只有四种核苷酸，但由于分子数量巨大（4 000～40 亿核苷酸），四种碱基可以随机排列。假如某一段 DNA 分子的核苷酸为1 000对，则有 $4^{1\,000}$ 种不同的排列组合类型，各种核苷酸的排列组合类型则是巨大的天文数字。提示 DNA 分子可储存巨大的遗传信息。

DNA 复制实现了遗传信息从亲代（细胞）向子代（细胞）忠实的传递，即遗传信息在细胞或个体间的传递。DNA 的复制是指通过复杂的酶促反应，由 1 个 DNA 分子变成 2 个与其完全相同的 DNA 分子的过程。

真核生物 DNA 分子复制属于双向复制，在每个 DNA 大分子中含有多个复制起点并进行半保留复制。含有一个复制起点的复制单位称为复制子（replicon）。每个复制子约含 30 kb～300 kb，因此人类基因中约有 10^5 个复制子。

人类核基因组的 DNA 是以半保留复制（semiconservative replication）的方式进行复制的。所谓半保留复制，是指双螺旋 DNA 在解旋酶的作用下解螺旋后，分别以两条亲代链为模板，按照碱基配对的原则在 DNA 聚合酶的作用下分别合成其新的互补链，组成两个子代 DNA 分子，其碱基顺序与复制前的亲代 DNA 分子顺序完全相同。由于新合成的子代 DNA 分子中分别含有亲代 DNA 分子的一条链和新合成的一条互补链，所以 DNA 的复制为半保留复制。DNA 的半保留复制保证了子代 DNA 与亲代 DNA 的一致性，是稳定遗传的分子基础之一。

DNA 的复制发生在细胞周期的 S 期（DNA 合成期）。复制好的两个 DNA 分子分别参与形成染色体的两个染色单体，在细胞分裂期，两个 DNA 分子伴随两个染色单体进入两个子细胞。这样，遗传信息从亲代细胞传给了子代细胞，保证了遗传物质的准确传递与数量上的恒定。

中心法则（center dogma）指遗传信息只能通过 DNA 复制从亲代 DNA 向子代 DNA 流动、通过转录向 RNA 传递和通过翻译向蛋白质流动，而不能够从蛋白质向核酸流动。中心法则是遗传信息的传递和流动的基本规律，反映了 DNA 在遗传信息保存和流动中的决定性地位。

第二节　基　因

一、基因的概念

基因（gene）是具有特定功能的DNA序列，是染色体DNA或线粒体DNA上的特定的指导细胞内蛋白质和RNA合成的DNA区段。有些基因为特定的蛋白质编码，如血清白蛋白基因、胰岛素基因、甲基化酶基因等；而有些基因并不编码蛋白质，如核糖体RNA基因、转运RNA（tRNA）基因等。

二、基因的类别

人类基因根据在细胞内分布不同，分为核内基因和核外基因。如果不特别说明，通常所指的人类基因组是指核内基因组。

根据功能不同，基因分为结构基因和调控基因。结构基因是指决定蛋白质和酶分子结构的基因，能编码多肽链中的氨基酸，从而决定肽链中氨基酸的种类和顺序。调控基因是指可调控结构基因表达的基因。

有些基因只能转录，不能翻译出蛋白质。例如，核糖体RNA基因（rRNA基因）和转运RNA基因（tRNA基因）。

三、基因的化学本质及组成形式

（一）基因的化学本质

基因的化学本质是具有一定功能的一段DNA序列。其生物学本质就是遗传信息的基本单位，其功能就是决定性状。在整个生物界中，绝大多数生物基因的化学本质是DNA。但在某些仅含有RNA和蛋白质的病毒中，其RNA是遗传物质。例如，烟草花病毒不含DNA，仅有一条单链RNA，靠感染宿主细胞繁衍后代。

（二）基因的组成形式

基因根据某一段核苷酸顺序在整个DNA分子中出现的频率不同可分为以下几种组成形式：

（1）单拷贝顺序（single copy sequence）：基因在整个DNA分子中只出现一次或少数几次，主要是编码蛋白质的结构基因。除组蛋白、角蛋白和肌动蛋白以外，几乎所有的蛋白质基因都是单拷贝顺序，平均为1 000个碱基对。单拷贝基因在整个基因组中所占比例最高。在人类单拷贝顺序占整个基因组的60%～70%。

（2）中等重复顺序（moderately repetitive sequences）：有些基因如核蛋白体RNA基因、tRNA基因、组蛋白基因等在DNA分子中可重复出现几十到几千次，约占人类基因组的30%～40%。以rRNA为例，在大肠杆菌中重复频率为7次而果蝇中可重复1 000次。可见真核细胞中重复顺序比原核细胞高得多。

（3）高重复顺序（highly repetitive sequences）：可重复几百万次。往往是简单的重复顺

序，如蟹的 T－A－T－A－T－A－T。也有的较长，如非洲绿猴 DNA 是以 172 个碱基对的顺序为基础重复几万次。高重复顺序一般位于异染色质上，多数不编码蛋白质或 RNA，其功能还不太清楚，主要是起间隔作用，可能与调控有关。

在重复顺序中还有一种反转重复顺序（inverted repetitive sequences）。其特点是一段碱基呈现回文结构。即一条单链回折即可形成互补的双链，故称为回文结构（palindromic structure）或发卡结构（hairpin structure）。这种结构对基因的复制与转录可能具有调节控制功能。

四、基因的结构

基因是特定的 DNA 区段，大多数真核生物的一个完整的结构基因由转录区（能指导合成相应的 RNA 的区段）和非转录区（调控基因的表达的区域）两大部分组成。在转录区内又可据其是否出现在成熟的 mRNA 中细分为内含子（intron）和外显子（extron），内含子为 mRNA 成熟过程中剪切除去的转录区部分，而外显子为出现在成熟 mRNA 中的转录区部分。在非转录区内包含了启动子（promoter）、增强子（enhancer）等调节基因表达的序列。有些基因产生的 RNA 不经翻译成蛋白质而直接参与组成细胞特定的功能组分，行使其生物学功能。但大多数基因最终产物为蛋白质，通过蛋白质的形式行使其生物学功能。这些基因的成熟 mRNA 中既含有指导蛋白质合成的区域即编码区，又含有非编码区，同时在其 5′端有帽子结构［7－甲基鸟苷－5′－三磷酸和 3′端多腺苷酸信号后接上 150～200 个腺苷酸的 poly(A) 尾］。经过上述修饰，mRNA 才能顺利进入细胞基质，作为模板指导正确的蛋白质合成。

（一）外显子和内含子

在结构基因转录区，编码序列在 DNA 分子中是不连续的，被非编码序列隔开。因此，结构基因又称为断裂基因，编码序列称为外显子，非编码序列称为内含子。在原始转录过程中外显子和内含子均会被转录，但内含子不编码基因任何产物，在原始转录产品的加工过程中内含子的转录产物被切除。因此，成熟的 mRNA 中不含有内含子的转录产物。

（二）侧翼序列

在结构基因的两侧都有一段不被转录的非编码区，称为侧翼序列。侧翼序列包含启动子（promoter）、增强子（enhancer）、终止子（terminator），对基因的有效表达起调控作用。

启动子是位于结构基因 5′端上游的一段特异的 DNA 序列，能启动并促进转录过程。增强子是位于启动子上游或下游的一段 DNA 序列，有增强启动子发动转录的作用，提高基因转录活性。终止子位于 3′端非转录区下游，5′－AATAAA－3′和一段反向重复序列组成，两者构成转录终止信号，促使 mRNA 从模板上脱离，转录终止。

五、基因的表达

遗传信息从 DNA 转移到 RNA 再转移到蛋白质，从而行使特定的功能，产生相应的性状的过程称为基因的表达。这一过程包括基因转录、RNA 的加工、翻译等步骤。

1. 转录

在细胞核内，以 DNA 为模板合成单链 mRNA 的过程称为转录（transcription）。人类细胞中的转录过程是以双链 DNA 的一条链为模板，在 RNA 聚合酶的作用下，以 ATP、

GTP、CTP、TTP 为原料，以碱基互补方式按 5′→3′方向合成与 DNA 的另一条链序列一致的 RNA 单链的过程。其中参与转录的 RNA 聚合酶有三种，分别负责不同的基因转录。RNA 聚合酶Ⅰ专门负责合成核糖体 RNA（rRNA）；RNA 聚合酶Ⅲ负责转运 RNA（tRNA）和 5 sRNA 的合成；RNA 聚合酶Ⅱ则负责编码蛋白的基因的转录以及用于这些转录物转录后剪切加工过程的核小体 RNA（snRNA）基因的转录。通过转录，遗传信息从 DNA 转移到了 mRNA。

DNA 含有许多基因，所有的基因并非都分布在同一条 DNA 单链上。究竟以哪一条为模板链，由启动子在哪条链上来决定。因此，与 DNA 复制不同，转录是一个不对称的过程。模板链并不永远在同一单链上。

2. mRNA 的加工过程

mRNA 的加工过程（mRNA maturation）是指 RNA 转录后不能直接作为翻译成蛋白质的模板，进行戴帽、剪接、加尾等加工的过程。

（1）戴帽：编码蛋白质的基因在转录初期的 RNA 初始物（hnRNA）（称为核内异质）的 5′端加上一个 7－甲基鸟苷－5′－三磷酸“帽子”结构。

（2）剪接：转录初期的 RNA 初始物（hnRNA）中含有外显子、内含子的转录序列，需要进行内含子剪切。剪切过程是由剪接小体识别内含子的 GU－AG 剪接信号，在剪接酶的作用下，按照 GU－AG 法则将 hnRNA 中的内含子转录序列切除并将各个外显子转录序列连接起来。

（3）加尾：在 hnRNA 的 3′端接上 150～200 个腺苷酸残基的多腺酸尾。

经过上述加工过程形成成熟的 mRNA，才能进入细胞基质，作为有效的合成蛋白质的模板。

3. 翻译

翻译（translation）是以 mRNA 为模板，在核糖体上将 mRNA 的碱基序列转变成多肽链的氨基酸序列的过程。翻译过程复杂，需要 mRNA、tRNA、rRNA、核糖体、各种活化的氨基酸以及蛋白质辅助因子的共同作用，还需要 ATP、GTP 提供能量。

mRNA 首先通过其核糖体结合位点与细胞质核糖体小亚基结合，随后带有起始反义密码子 CAU 的甲硫氨酸（Met）－tRNA 与 mRNA 的起始密码子 AUG 结合，形成翻译起始复合物，然后核糖体的大亚基与其结合成完整的核糖体－mRNA 复合物。随着核糖体在 mRNA 上以 5′→3′方向移动，携带有特定氨基酸的活化的 tRNA 以其反密码子识别并结合 mRNA 上的密码子，在转肽酶的催化下不断地将特定氨基酸连接在延伸的肽链的羧基端，直到出现终止密码子。此时结合上去的 tRNA 不携带任何氨基酸，肽链合成即告终止，肽链从核糖体上释放出来。新合成的肽链往往需经过翻译后加工如切除信号肽、加糖基、磷酸化等才表现出特定的生物学功能。如果某基因 DNA 的碱基序列发生了变异，可使该基因的最终产物蛋白质的结构也发生改变，从而导致其功能发生改变，并导致遗传病。

启动子（promoter）是位于基因的转录起始位点上游，能够与特定的转录因子结合以及其后的 RNA 聚合酶Ⅱ结合形成转录复合物，并最终导致转录的启动。很多真核启动子在转录起始位点上游 25 bp～35 bp 处含有 TATA 盒（TATA box），而在一些基因的启动子上游还含有能大大提高转录活性的上游调元件（upstream regulatory elements）。

在 mRNA 的蛋白质编码区，从翻译起始位点开始，相邻的每三个碱基决定合成蛋白质的一个特定的氨基酸，这样的三联碱基序列构成相应氨基酸的密码子。例如，AUG 决定

(代表)甲硫氨酸,同时为肽链的起始密码子;AGG 为精氨酸密码子;UAA、UAG、UGA 为终止密码子等。遗传密码子的本质是进入核糖体的、携带氨基酸的转运 RNA 能够通过其特异的核酸区段序列识别特异的三联体核酸序列,从而使核酸序列翻译成特定的蛋白质序列。

第三节 基因突变及其对人类的影响

基因是特定的 DNA 区段,而 DNA 除了具有化学稳定性外,还具有可变异性,称为 DNA 变异。DNA 分子的稳定性是相对的,而变异却是绝对的,在各种物理、化学等因素的作用下,DNA 分子在复制过程、复制间期以及损伤修复过程都可能发生序列改变,导致 DNA 序列的遗传多态性或基因突变(gene mutation)。人类和其他生物的遗传物质具有一定的稳定性,但存在一定变异。基因突变是指 DNA 分子中碱基对组成或排列序列的改变,基因突变是生物进化和生物多样性的来源。

基因突变是在机体的各种内、外环境因素作用下产生的。自然条件下发生的基因突变叫做自然突变,人为条件下诱发产生的基因突变叫做诱发突变。自发突变可能与环境中的辐射本底及其他可变物质,以及生物机体代谢活动中产生的某种中间代谢产物对遗传物质的影响和损伤有关。凡能诱导基因突变的各种因素称为诱变剂。例如,紫外线、电离和电磁辐射等物理因素,羟胺类化合物、亚硝酸类化合物、烷化剂类物质等化学因素,病毒感染等生物因素。

一、基因突变的类型

1. 根据基因结构改变分型

根据基因结构的改变方式,基因突变可分为碱基置换突变和移码突变两种类型。

(1)碱基置换突变:由一个错误的碱基对替代一个正确的碱基对的突变称为碱基置换突变。例如,在 DNA 分子中的 GC 碱基对由 CG 或 AT 或 TA 所代替,AT 碱基对由 TA 或 GC 或 CG 所代替。碱基替换过程只改变被替换碱基的那个密码子,也就是说,每一次碱基替换只改变一个密码子,不会涉及其他的密码子。引起碱基置换突变的原因和途径有两个:一是碱基类似物的掺入。例如,在大肠杆菌培养基中加入 5-溴尿嘧啶(BU)后,会使 DNA 的一部分胸腺嘧啶被 BU 所取代,从而导致 AT 碱基对变成 GC 碱基对,或者 GC 碱基对变成 AT 碱基对。二是某些化学物质如亚硝酸、亚硝基胍、硫酸二乙酯和氮芥等,以及紫外线照射,也能引起碱基置换突变。

(2)移码突变:基因中插入或者缺失一个或几个(非 3 或 3 的倍数)碱基对,会使 DNA 的阅读框架(读码框)发生改变,导致插入或缺失部位之后的所有密码子都跟着发生变化,结果产生异常的多肽链。移码突变可由吖啶橙、原黄素、黄素等诱变剂诱发。这些诱变剂分子大小与碱基大小差不多,能插入 DNA 分子的相邻两个碱基之间,起到诱变作用,使 DNA 复制时发生差错,导致移码突变。碱基对插入或缺失的数量、位点不同,对其后密码子组合改变的影响程度也不相同。

2. 根据遗传信息改变分型

根据遗传信息的改变方式，基因突变又可以分为同义突变、错义突变、无义突变和终止密码子突变四种类型。

（1）同义突变：有时 DNA 的一个碱基对的改变并不会影响它所编码的蛋白质的氨基酸序列。这是因为改变后的密码子和改变前的密码子是简并密码子，它们编码同一种氨基酸，这种基因突变称为同义突变。

（2）错义突变：指由于一对或几对碱基对的改变而使编码某一种氨基酸的密码子变为编码另一种氨基酸的密码子的基因突变。这种基因突变有可能使它所编码的蛋白质部分或完全失活。例如，人血红蛋白 β 链的基因如果将决定第 6 位氨基酸（谷氨酸）的密码子由 CTT 变为 CAT，就会使它合成出的 β 链多肽的第 6 位氨基酸由谷氨酸变为缬氨酸，从而引起镰形细胞病。

（3）无义突变：指由于一对或几对碱基对的改变而使决定某一氨基酸的密码子变成一个终止密码子的基因突变。其中密码子改变为 UAG 的无义突变又叫琥珀突变，密码子改变成 UAA 的无义突变又叫赭石突变。

（4）终止密码子突变：指在 DNA 分子的终止密码子中，由于发生一个碱基的替换，使本来为终止密码子的 UAA 或者 UGA、UAG 突变为编码某一氨基酸的密码子。例如，α 珠蛋白基因第 142 位是终止密码子 UAA，UAA 中的 U→C，突变为编码谷氨酰胺的密码子 CAA，导致合成的 α 链延长为 172 个氨基酸，增加了 31 个氨基酸。这种合成的 α 链不稳定，很容易被破坏，使 α 链合成减少，导致 α 地中海贫血。

二、基因突变产生的后果及对人类的影响

基因突变可发生在个体发育的任何阶段，既可发生在体细胞，又可发生在生殖细胞。体细胞突变不造成后代的遗传改变，但突变的细胞经过有丝分裂形成遗传改变的细胞群，是细胞癌变的基础。生殖细胞突变，对突变个体没有影响，但突变基因可传递给后代，造成后代遗传物质改变。

根据基因突变产生的后果及对人类的影响，可分为下列几种情况。

（1）中性突变：虽然一些突变改变了 DNA 分子的碱基序列，但是对基因和蛋白质的功能并不产生影响。例如，在结构基因内发生的同义突变，不影响蛋白质（酶）合成；DNA 分子非编码顺序或者重复顺序中产生的碱基改变，一般也不影响蛋白质（酶）合成，均属于中性突变。这种突变频率高，在基因组中每 100 bp～200 bp 中存在 1 bp 改变，可以构成 DNA 分子的多态性。人类基因组的多态性就是这样形成的。

（2）分子病：由于基因突变，使它所编码的蛋白质发生相应的变化，结构异常或者数量减少，产生一系列病理变化所引起的疾病，即分子病。分子病的种类很多，主要包括血红蛋白病、血浆蛋白缺乏症、免疫球蛋白缺乏症、受体缺乏及转运机制障碍等。

（3）先天性代谢病：酶参与体内所有物质代谢，是各种代谢途径的催化剂；基因通过合成特定的酶控制体内的新陈代谢和遗传性状的产生。由于基因突变引起酶蛋白结构异常或者酶蛋白合成数量的减少，均可导致遗传性酶缺陷和代谢紊乱，从而引起先天性代谢病。酶是蛋白质，先天性代谢病也是一种分子病。目前已发现遗传性代谢病有 400 余种，主要有氨基酸、糖类、脂类和核酸等物质代谢异常。例如，白化病的发生是由于缺乏酪氨酸酶导致的先天性代谢病。

（4）恶性肿瘤：体细胞内的基因突变也是包括视网膜母细胞瘤在内的人类某些恶性肿瘤发生的重要原因。视网膜母细胞瘤是儿童时期的视网膜肿瘤。例如，遗传型视网膜母细胞瘤发生归因于一个 Rb 基因在生殖细胞内发生突变，另一个 Rb 基因在体细胞内发生突变。在 Rb 杂合的视网膜细胞内发生体细胞突变，无正常的等位基因。因此，细胞无限制性增殖，形成视网膜肿瘤。另外一种类型称为散发型视网膜母细胞瘤，归因于两个 Rb 等位基因发生两次独立的突变。因为儿童遗传型视网膜母细胞瘤仅需要一次体细胞突变就可以发生肿瘤，其发生率大大高于散发型，且发病早；后者需要两次独立的体细胞突变，故发病晚。

思考题

1. 简述核酸的化学组成及其结构特点。
2. 简述基因的概念。
3. 基因突变有哪些类型？基因突变对人类有何影响？

（丁显平）

第五章　人类遗传性疾病与优生

第一节　人类遗传性疾病概述

1. 遗传性疾病的概念

遗传性疾病（hereditary disease，inherited disease，or genetic disease）简称遗传病，是指生殖细胞或受精卵的遗传物质（染色体和基因）发生改变所引起的疾病，通常具有垂直传递（vertical transmission）的特征。上述定义强调了遗传病的三个方面：①垂直传递。遗传病不同于传染病的水平传递（horizontal transmission），而是具有上代往下代传递的特点。但不是每个遗传病的家系中都可观察到这一现象。因为有的患者是首次突变产生的病例，是家系中的首例；有些遗传病特别是染色体异常的患者，由于活不到生育年龄或不育，以致观察不到垂直传递的现象。②遗传物质（主要是指基因和染色体）的改变，包括基因突变和染色体畸变，这是遗传的物质基础。③不是任何细胞的遗传物质改变都可以传给下代，所以必须强调生殖细胞或受精卵的遗传物质发生改变。例如，人在遭受电离辐射后可以产生放射病，此时，皮肤细胞、骨髓细胞等体细胞的遗传物质可以发生改变，但放射病不能传给下一代。随着现代医学的发展，越来越多疾病的发生、发展与转归被发现与遗传因素有关，遗传病的概念有所扩大。因为由遗传物质改变所引起的疾病都可以称为遗传病，所以体细胞遗传物质改变引起的疾病也包含在遗传病范畴之内，尽管其不具有传递给后代的现象。

2. 遗传病的特点

由于遗传病是生殖细胞或受精卵的遗传物质发生改变所引起的，因此，通常具有下列特点：

（1）遗传物质的改变，即基因的突变或染色体的畸变。

（2）遗传性。患者携带的致病基因将会通过后代的繁衍而继续遗传下去，给人口素质带来不可低估的危害。遗传性还表现出垂直传递，即由上代传至下代，不延伸至无亲缘关系的个体，在显性遗传方式的病例中后代常表现出一定的发病比例。

（3）终身性。由于目前还不能改变遗传病的病因，仅能改善症状及病程，因此大多数遗传病终身难以治愈，如先天愚型、肝豆状核变性等。有些疾病若能早期诊断及治疗，可能会缓解症状或避免发病。例如，苯丙酮尿症，若能在出生后尽早确诊，出生后 1～2 个月即开始治疗，并坚持到 12 岁，患者就能避免发生智力低下。

（4）家族性。19 世纪英国维多利亚女王家庭就是一个著名的血友病家庭。在女王的后裔中，出现血友病的患者非常普遍，并通过携带致病基因的女儿的联姻，将血友病传给了欧

洲的一些皇族，从而产生了一系列的血友病患者和血友病基因携带者。对于一个家族来说，这不能不说是一个大的灾难。

（5）先天性。往往在孩子出生前就带有先天性畸形或遗传性疾病，以至孩子一生下来就可能是个遗传病患者。当然，也有一些孩子出生时是正常的，若干年后才会出现临床症状。有的遗传病也可能在出生一定时间后才发病，有时要经过几年、十几年甚至几十年后才能出现明显症状。例如，假性肥大型肌营养不良要到儿童期才发病，慢性进行性舞蹈病一般要在中年时期才出现疾病的表现。尽管是出生多年后才发病，病因却在精卵结合时就形成了。因此，其仍属于遗传病。

（6）体细胞中的遗传物质改变所致疾病，称为体细胞遗传病。因为它是体细胞中遗传物质的改变造成的，所以一般并不向后代传递。各种肿瘤的发生都涉及特定组织中的染色体和基因的改变，因此也属于体细胞遗传病。

3. 遗传病与先天性疾病及家族性疾病的区别

（1）先天性疾病：常被人们误认为是遗传病。先天性疾病与遗传关系密切，但不完全是一类病。先天性疾病是未出生之前或生下来就存在的疾病，其中大多数表现为身体外部形态及内脏发育不正常，常与遗传有关，可以是遗传病，如脑积水、无脑儿、脊柱裂、先天性无肛门等。但先天性疾病还包括母体环境因素引起的胎儿疾病，如怀孕头三个月母亲感染风疹病毒、巨细胞病毒、弓形体或接触致畸物质所引起的胎儿先天性心脏病、先天性白内障等各种先天性畸形或出生缺陷。这些疾病虽然是先天的，但是由环境因素造成的，这类疾病不会传给后代，所以不是遗传病。

（2）家族性疾病：是指同一家族中一人以上发病，常为遗传病，但也可能是相同的不良环境因素所引起的。遗传病常在一个家族中有多人发病，为家族性的，但也有可能一个家系中仅有一个患者，为散发性的。例如，苯丙酮尿症，因其致病基因频率低，又是常染色体隐性遗传病，只有夫妇双方均带有一个导致该疾病的基因时，子女才会成为这种隐性致病基因的纯合子（同一基因座位上的两个基因都不正常）而得病，因此多为散发。特别在只有一个子女的家庭，偶有散发出现的遗传病患者，就不足为奇了。而维生素 C 缺乏所引起的坏血病、缺碘引起的甲状腺功能低下所导致的孩子智力低下、寄生虫病及烈性传染病等，这些都可有家族中多人发病的情况，但不能认为是遗传病。不过，应该指出的是，随着生命科学研究的不断发展，以前认为与遗传无关的一些传染病，如小儿麻痹症、白喉、慢性活动性肝炎也发现与遗传因素有关。

4. 疾病发生过程中的遗传因素与环境因素

（1）完全由遗传因素决定的疾病，如染色体病、血友病、色盲、成骨发育不全等。

（2）遗传因素起决定作用，环境因素起诱导作用的疾病。例如，哮喘、精神分裂症，遗传因素占 80%，环境因素占 20%；葡萄糖－6－磷酸脱氢酶（G－6－PD）缺乏症只有在服用伯氨喹啉类药物、食用蚕豆类食品的情况下才发病。

（3）环境因素起主导作用，遗传因素为发病提供了遗传背景。例如，胃及十二指肠溃疡，遗传因素占 30%～40%，环境因素占 60%～70%。研究已证实，在 19 号染色体上有小儿麻痹易感基因，带有这个基因的孩子易患小儿麻痹；在 5 号染色体也发现了白喉毒素敏感基因，带有此基因的孩子易患白喉；有 HLA—B8 基因的人易患慢性活动性肝炎。

5. 遗传病的分类及发病率

遗传病通常分为基因病（genic disease）、染色体病（chromosomal disease）两大类。基

因病又分为单基因病（monogenic disease）和多基因病（polygenic disease）。后来增加了体细胞遗传病和线粒体遗传病。基因病和染色体病的分类及发病率见表5－1。

表5－1　基因病和染色体病的分类及发病率

分　类	发病率（%）
单基因病	2.5
常染色体显性遗传病	0.9
常染色体隐性遗传病	1.3
性连锁遗传病	0.3
多基因病	18.0
染色体病	0.54
常染色体异常	0.36
性染色体异常	0.182

第二节　染色体病与优生

染色体畸变引起的疾病称为染色体病。据报道，染色体畸变在自发流产儿中约占50%，占死产儿的5%，占7岁内死亡儿童的5%，占成活婴儿的0.5%～1%。染色体病严重影响人口质量，给家庭和社会都带来了沉重的负担。因此，染色体病是人类临床遗传学研究的主要内容之一。

一、染色体病的特征

（1）带有染色体异常的个体，其生长发育和智力发育通常迟缓，一般均有多发性先天性畸形。在性染色体异常的个体中，其生长和性发育出现异常，如第二性征不发育、男性乳房发育等。

（2）带有染色体异常的个体，其亲代的染色体可为正常。这种异常的出现可能是由于亲代生殖细胞形成过程中染色体发生了改变所致。

（3）染色体平衡易位携带者，其表型正常的亲代有可能将其畸变染色体传至子代，引起子代染色体不平衡而致病。

（4）带有染色体异常的个体，可于其母亲怀孕期间利用绒毛或羊水细胞培养或荧光原位杂交（FISH）技术等作出确诊，因而可以进行产前诊断。

二、染色体病的分类

染色体病通常分为常染色体病和性染色体病。

（一）常见的常染色体疾病

1. 唐氏综合征

唐氏综合征（Down综合征、21三体综合征、先天愚型）是一种最常见的常染色体疾

病，新生儿的发病率为 1/1 000～2/1 000。有资料显示，目前我国每年出生的唐氏综合征患儿约为27 000名，平均每 20 min 就有 1 名唐氏综合征患儿出生。该病的发生率随母亲生育年龄的增大而增高。

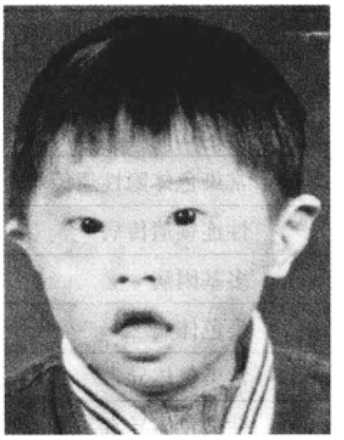


图 5－1 唐氏综合征患儿

（1）唐氏综合征的临床表现：主要表现为生长迟缓、不同程度的智力低下，伴特殊面容、多发畸形和皮纹。患儿抽象思维能力极差、性格温顺、喜爱音乐、好模仿。病情较轻的患儿可以接受教育。特殊面容（如图 5－1 所示）包括：眼裂小、外眼角上倾、鼻根低平、颌小、腭狭、口半张开、舌常外伸并有舌裂，又称为“伸舌样痴呆”。初生儿常有第三囟门。指短，小指内弯，其中间指骨发育不良。跗趾与第二趾之间相距宽大。肌张力低，关节可过度屈曲。其腹部也常因肌张力低下而膨隆。皮纹特征有：通贯掌出现频率高，第 5 指仅一条指褶纹，t 点高位，跗趾球区出现胫侧弓形纹。患儿容易患呼吸道感染，50％患有先天性心脏病，有的有消化道畸形、生殖器发育异常。男性患者可有隐睾、精子减少、不育，但已有低水平 21－三体嵌合体而有生育的男性患者的报道。女性患者少数有生育能力，子女约 50％将患病。该类患儿急性白血病的发生率比正常人群高出 10～20 倍。活婴患者中许多人可以活到成年。

（2）唐氏综合征的核型：常有以下几型核型。① 标准型：核型为 47,XX(XY)＋21，最常见，约占 90％。这表明患儿的核型中，染色体总数为 47，与正常的二倍体（46）相比，多了一条第 21 号染色体。21 三体型唐氏综合征患者偶有能生育的，后代中约有 1/2 将发育成唐氏综合征患儿，主要原因是母亲或父亲的生殖细胞形成时发生了 21 号染色体的不分离，其中 80％是由于卵子的形成过程中发生染色体不分离。② 易位型：多发生在 D/G 组或 G/G 组染色体，为罗伯逊易位型，占 8％～10％。常见于 30 岁以下年轻的母亲所生的患儿，其中约 1/4 是遗传而来，3/4 是散发的易位，即借突变而产生的。因此，在年轻母亲所生的唐氏综合征患儿中，约有 1/10 为易位型，约 1/40 是遗传而来。易位型最常见的是 D/G 易位，又以 14/21 易位常见。核型为 46,XX(XY)－14,＋t(14q;21q)，这表明患儿体细胞中的染色体总数仍为 46，但是少了一条第 14 号染色体，多了一条由第 14 号长臂和第 21 号长臂所形成的易位染色体，增加了第 21 号染色体长臂。患儿具有全部唐氏综合征的临床表现。若易位的发生是遗传而来，患儿的双亲之一为平衡易位携带者，核型为 45,XX(XY)－14,－21,＋t(14q;21q)。14/21 平衡易位携带者与正常人结婚，常常有自然流产史，活产婴儿中有1/3为唐氏综合征患者，1/3 为平衡易位携带者。21/21 平衡易位携带者核型为 45,XX(XY)－21,－21,＋t(21q;21q) 与正常人结婚，活产婴儿中 100％为唐氏综合征患者。目前认为大部分的 der(21q;21q) 实质上是一条等臂染色体，由 21 号染色体的长臂复制而成。③嵌合型：如果不分离或遗失发生于受精卵的前几次分裂，就会形成 46,XX(XY)/47,XX(XY)＋21 的嵌合型。嵌合型约占 2.5％。这种嵌合型的唐氏综合征患儿的临床表现可以很典型，也可以只有较轻的临床表现，这取决于异常细胞系是否占优势。

（3）唐氏综合征的诊断、治疗及预防：① 唐氏综合征的诊断。90％以上患者根据唐氏综合征的面容、特殊皮纹及智力低下可作出诊断。染色体检查是患者确诊依据。由于过氧化物歧化酶、中性粒细胞的碱性磷酸酶的基因定位在 21 号染色体上，患者过氧化物歧化酶、碱性磷酸酶较正常人高 50％。② 唐氏综合征的治疗。目前对该类患者没有特殊、有效的治

疗手段。治疗仅限于对患者进行适当的训练和细心照料，可试用一些促进脑细胞代谢和营养的药物，如γ－氨基酸、谷氨酸、维生素 B_6、叶酸等。③唐氏综合征的预防。目前，唐氏综合征还无法治疗，故只有进行早期诊断，终止妊娠，才能达到优生的目的。防止唐氏综合征患儿的出生能有效降低唐氏综合征的发生率。唐氏综合征的发生率随母亲生育年龄的增高而增高。在美国、加拿大等发达国家主张 35 岁以上的高危孕妇普遍进行产前诊断，即开展羊水细胞及绒毛细胞染色体检查。但羊水穿刺及绒毛活检均为侵入性检查，可能会引起宫内感染导致并发证，且有1%～2%的流产率。这一侵入性方法主要用于 35 岁以上的高危孕妇，而这部分孕妇仅占整个孕妇人群的 5%左右，事实上 80% 唐氏综合征患儿多为 35 岁以下的孕妇（约占孕妇人群的 95%）所生，但目前不具备对所有孕妇都作胎儿染色体核型分析的条件。为减少唐氏综合征患儿的出生，在许多经济发达国家已普遍采用母血清生化标记物测定结合孕妇的年龄、体重等因素筛查出高风险孕妇，对高风险孕妇再作进一步的确诊试验。妊娠中期（15～20 周）孕育唐氏综合征胎儿的孕妇血清中甲胎蛋白（AFP）及游离雌三醇（uE3）低于正常水平，β－绒毛膜促性腺激素（β－HCG）高于正常水平。目前普遍认为，通过三联生化标记物的筛查试验可筛出 60%～70% 的唐氏综合征胎儿，因此筛查试验被认为是当前较经济、简便，对胎儿无侵犯性，便于大规模开展的检查方法。

（4）唐氏综合征的再发风险：唐氏综合征的发生随孕妇年龄增高而增高。孕妇分娩时年龄为 35 岁者，风险率是 1/350；40 岁者，风险率是 1/100；45 岁者，风险率是 1/25。① 标准型：唐氏综合征的再发风险较正常同龄孕妇高，根据孕妇的年龄，升高范围为 2～8 倍。②易位型：Dq21q 平衡易位携带者理论上通过减数分裂可产生 6 种配子，但受精后往往仅可产生三种胎儿，即正常胎儿、平衡易位携带者、易位型患儿，产生患儿的风险约为 33.3%。而风险估计还与双亲中谁为携带者有关。据调查显示，若母亲为 Dq21q 携带者，生育患儿的风险为 10%～15%；若父亲为 Dq21q 携带者，生育患儿的风险为 5%。21q22q 携带者的再发风险与 Dq21q 相似。21q21q 携带者的后代可有两种胎儿：21 单体胎儿、21 三体胎儿。由于 21 单体胎儿不能存活，21q21q 携带者的后代 100%为患儿，不宜生育。

2. 18 三体综合征

18 三体综合征（Edward 综合征）也较为常见，新生儿中发病率约为 1/4 500。患儿头部有后突的帆部，眼裂狭小，耳畸形而低位，小颌，胸骨短小，骨盆小而大腿内收受限，船形足，手以特殊姿势握拳，拇指紧贴掌心，3、4 指紧贴手掌，2、5 指压于其上（如图 5－2 所示）。肌张力高。90%有先天性心脏病，室间隔缺损和动脉导管未闭较常见。由于严重畸形，患儿生长发育迟缓，约 1/3 的患儿出生后在 1 个月内死亡，50%在 2 个月内死亡，90%在 1 岁内死亡。生存几年者有智力障碍。核型分析表明，患儿的核型为 47,XX(XY)＋18；个别的患儿核型可为 46,XX(XY)/47,XX(XY)+18 的嵌合型。

图 5－2　18 三体综合征患儿

3. 13 三体综合征

13 三体综合征（Patau 综合征）较为少见，新生儿中发病率约为 1/25 000。患儿头小，前额低斜，前脑发育有缺欠，小眼球或无眼球，耳畸形低位，小颌，唇裂与腭裂，多指，手也有与 18 三体综合征相同的姿势握拳，脚多趾。88%有先天性心脏病，右位心，室间隔缺损和未闭动脉导管最常见。多囊肾，隐睾或双角

子宫（如图 5－3 所示）。核型分析表明，患儿的核型为 47，XX（XY）＋13。偶有 D/D 易位型者，核型为 46，XX（XY）－13，＋t（13q；13q）。D/D 易位携带者所生的后代中，由于流产所致，D/D 易位型患儿只占 1%。由于严重畸形，出生后 45%在1 个月内死亡，90%在 6 个月内死亡。

图 5－3 13 三体综合征患儿

4. $5P^-$综合征

$5P^-$综合征（猫叫综合征）很少见，只占初生儿的 1/50 000。患儿头小，脸圆，面部有奇异机警表情（如图 5－4 所示），眼裂外侧下倾，眼间距宽，缩颏，哭声如猫叫，因此得名。有关研究认为患儿是喉部畸形、松弛、软弱所致，也有人认为是中枢神经系统器质性或功能性病变引起呼气时喉部漏气所致。患儿中 50%有先天性心脏病，以室间隔缺损和动脉导管未闭为常见。生长缓慢，智力发育障碍。患儿的核型为 46，XX（XY）$5P^-$，这表明患儿核型中，第 5 号染色体之一的短臂有缺失。大部分患儿能活到儿童期，少数可活到成年。

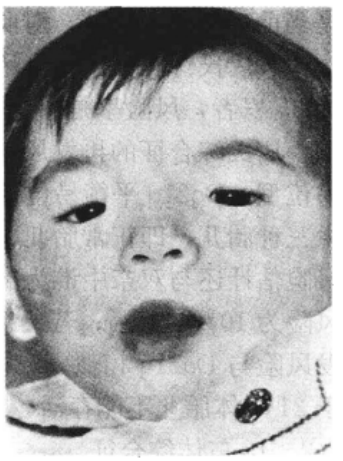


图 5－4 $5P^-$综合征患儿的面容

（二）常见的性染色体疾病

1. Turner 综合征

Turner 综合征又称为先天性卵巢发育不全综合征、先天性性腺发育不全综合征。该病是 Turner 于 1938 年首先报道的，是目前最常见的性染色体异常，在新生女婴中的发病率约为 1/5 000。

（1）临床表现：本病以原发闭经、性腺呈条索状、外生殖器发育幼稚、身材矮小（120 cm～140 cm）、后发际低、肘外翻为主要特征。常合并有上颌狭，下颌小而内缩，形成错咬合；耳畸形、低位；50%有蹼颈，盾状胸；乳间距宽，乳头发育不良，乳腺未发育；指甲发育不良，第 4、5 掌骨短小（如图 5－5 所示）。35%有心血管疾病，主要为主动脉缩窄。新生儿期脚背面有淋巴管扩张性水肿。患者的智力通常在正常范围，但不如正常的同胞。部分患者有轻度智障，患者童年时期常表现出顺从或消极的个性。

卵巢发育不良是 Turner 综合征的特征性表现。青春期患者的卵巢呈无卵泡性结构。由于雌激素水平严重低下，故大部分患者有原发性闭经，能经历初潮或规律性月经的患者占 2%～5%，但仅能维持数月或数年，之后发生早期绝经。患者第二性征发育不良的程度因人而异。

（2）核型：Turner 综合征的核型为 45，X，X 染色质和 Y 染色质均为阴性。必要时应用 FISH 和定量 PCR 方法检测隐蔽或低水平的嵌合体 45，X/46，XX。由于嵌合体患者 46，XX 的核型存在，患者体征可以不典型，而只有身材矮小，原发闭经和条索状性腺。

（3）治疗：Turner 综合征患者青春期用女性激素治疗可促进第二性征和生殖器官的发育。经治疗后患者可有月经来潮，并可改善患者的心理状态，但不能解决生育问题。有用低剂量雌、雄激素和生长激素治疗本病身材矮小的研究，但治疗方法及效果尚在研究中。

（4）再生风险：Turner 综合征患儿大部分为新发生的性染色体异常，再发风险低。对

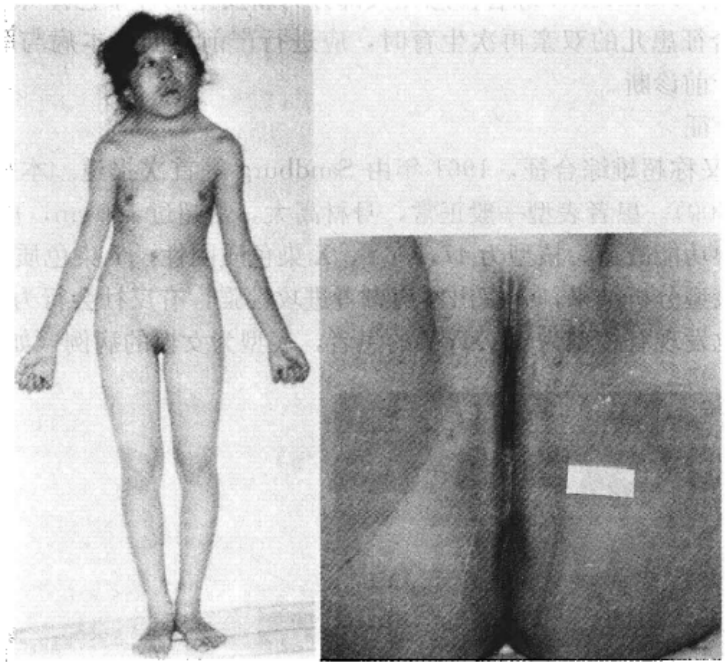


图 5－5　Turner 综合征患者（左）及外生殖器（右）

于已经生育过 Turner 综合征患儿的双亲再次生育时，应进行产前诊断。

2. 先天性睾丸发育不全综合征

先天性睾丸发育不全综合征（Klinefelter 综合征）又称原发性为小睾症，是 Klinefelter 于 1942 年首先报道的。本病发病率约占男性总数的 1/800。

（1）临床表现：本病以身材高大、睾丸小、第二性征发育异常、男性乳房发育和不育为特征。患者儿童时无任何症状，青春期后出现临床症状。患者身材细长，以下肢为明显。本病约 25%有男性乳房发育，体毛稀少，阴毛分布似女性。大部无须（如图 5－6 所示）。睾丸小，长径约 2 cm，精曲小管玻璃样变性，无精子发生，不育。患者的智商较同龄对照组稍低。部分患者可有精神异常倾向。高龄产妇生育该类患儿的风险较高。

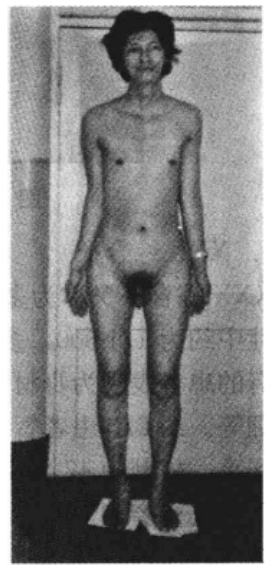


图 5－6　Klinefelter 综合征患者

（2）核型：Klinefelter 综合征核型为 47,XXY。X 染色质和 Y 染色质均为阳性。约有 1/3 的患者核型为 46,XY/47,XXY 嵌合型，患者可一侧有正常的睾丸而有生育能力。也有的患者核型为 48,XXXY，并有两个染色质，笔者还发现有 49,XXXXY 的患者。如果核型为 46,XY，而有典型体征，则为睾丸生殖上皮发育不全，多继发于隐睾、睾丸炎或放射线损伤。

（3）治疗：Klinefelter 综合征患者青春期用雄激素替代治疗，可促进第二性征发育、改善心理障碍。但不能改善患者已经闭锁的性细胞和已经增大的乳房。男性性腺发育不良者，性腺容易发生恶变。嵌合体患者，可采用卵子细胞浆内精子注射，辅助受孕。

（4）再发风险：Klinefelter 综合征患儿大部分为新发生的性染色体异常。对于已经生育过 Klinefelter 综合征患儿的双亲再次生育时，应进行产前诊断。本病与孕妇高龄有关，应对高龄孕妇进行产前诊断。

3. XYY 综合征

XYY 综合征又称超雄综合征，1961 年由 Sandburg 等首次报道。本病发病率占男性总数的 1/（750～1 500）。患者表型一般正常，身材高大，常超过 180 cm，皮肤多有结节状痣，桡尺骨接合，性腺功能减退。核型为 47,XYY，X 染色质阴性，Y 染色质有两个。Sandburg 首先报告本病的核型分析结果，并提出本病患者进攻性强，有反社会行为，常因暴力致犯法而坐牢。但笔者也发现有核型为 47,XYY 的患者，表型为女性的病例（如图 5－7 所示）。

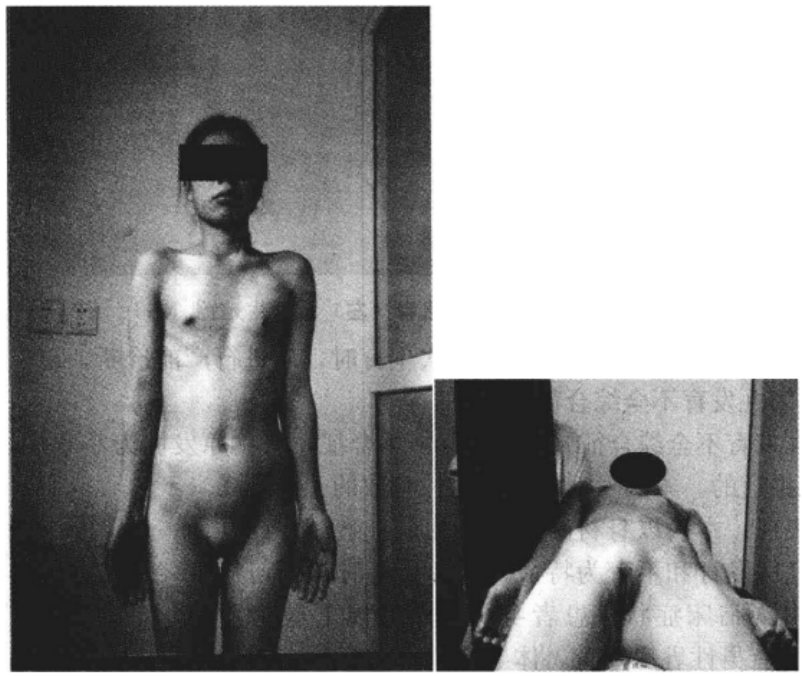


图 5－7　核型为 47,XYY 的患者，表型为女性外观

4. XXX 综合征

XXX 综合征又称为多 X 综合征或超雌综合征，1959 年由 Jacob 首先报道。本病发病率在女性中约为 1/1 000，多数患者无明显异常，可正常生育。少数患者可有间歇性闭经，不育。有的患者表现为身材矮胖、颈短、四肢轻度骨骼发育不良，旋肘受限、桡骨尺骨边界、膝外翻等。约 2/3 患者智力稍低，部分患者可有精神缺陷。含 X 染色体越多，患者智力障碍越严重。核型为 47,XXX，X 染色质有两个，Y 染色质阴性。本病与孕妇高龄有关，应对高龄孕妇进行产前诊断。

5. 两性畸性

两性畸形是指一些患者性腺或内、外生殖器，副性征有两性特征。根据患者体内是否有两性性腺，分为真两性畸形和假两性畸形。这类疾病可由基因突变所致，染色体检查有助于确定核型。

（1）真两性畸性：患者体内同时具有两性性腺。内、外生殖器均有两性特征，副性征可为男性或女性（如图 5－8 所示）。患者的性腺约 40%一侧有卵巢，另一侧为睾丸；约 40%

一侧有卵巢或睾丸，另一侧有卵睾；约20%两侧为卵睾。

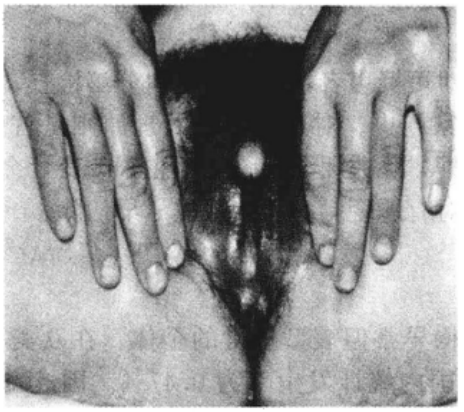


图5-8　真两性畸性患者的外生殖器

①46,XX/47,XXY嵌合型：X染色质阳性，Y染色质阳性，两型细胞的比例可各占50%，但大部以46，XX型细胞占优势。

②46,XY/45,X嵌合型：X染色质阴性，Y染色质阳性，两型细胞中46,XY型占优势，患者睾丸有恶变的趋势。

③46,XY/46,XX嵌合型：X染色质阳性，Y染色质阳性，两型细胞在不同患者中可能各占优势。

④46,XX型：这是Y染色体部分易位至X染色体的一种类型。X染色质阳性，Y染色质阴性，我们对这类患者进行SRY基因检测，往往发现有SRY基因阳性。这可能是由于Y染色体上的SRY基因易位到X染色体上所致。

（2）假两性畸形：患者体内只具有一种性腺且与核型一致，但内、外生殖器均有不同程度两性特征。根据体内的性腺类型，假两性畸形又分为男性假两性畸形和女性假两性畸形。

①男性假两性畸形：核型为46,XY。性腺为睾丸，内生殖器或/和外生殖器具有两性的特征，副性征发育不良有女性化倾向。

特发性男性假两性畸形：患者有或无隐睾，睾丸常常发育不全。内生殖器具有发育不良的两性器官，发育不全的男性或女性器官；外生殖器多有不同程度的尿道下裂，男性副性征多发育不良。X染色质阴性，Y染色质阳性，核型为46,XY。

睾丸女性化综合征：又称为雄激素不敏感综合征。其为雄激素受体基因突变，呈XR遗传。发病机制可能是与性器官发育有关的靶细胞缺乏雄性激素受体，睾丸分泌的雄激素不能发挥作用，外生殖器女性化。患者有睾丸，位于腹腔中、腹股沟管中或大阴唇皮下；外阴为发育良好的女性外阴，可有阴蒂肥大；阴道短浅、盲闭，无子宫和附件，有副睾和输精管；外观女性，乳房发育，原发闭经，不育，阴毛和腋毛缺如或稀少。患者的睾丸易发恶性肿瘤。X染色质阴性，Y染色质阳性，核型为46,XY。

②女性假两性畸形：核型为46,XX，性腺为卵巢。内生殖器或/和外生殖器具有两性的特征，副性征发育不良有男性化倾向。本症有许多类型，常见有先天性肾上腺皮质增生症，呈常染色体隐性遗传（AR）。患者基因突变使体内缺乏肾上腺皮质激素合成酶，使肾上腺皮质激素合成不足，促肾上腺皮质激素分泌增多，肾上腺皮质增生，雄激素合成过多。患者外阴可呈男性，有尿道下裂；或呈女性而阴蒂肥大。阴毛多呈女性分布，多有输卵管和子宫，

但是均发育不良。X染色质阳性，Y染色质阴性，核型为46,XX。少数患者是由于孕妇在妊娠期间肾上腺皮质功能亢进或使用黄体酮保胎等，导致胎儿体内雄激素水平过高，引发女婴男性化。

两性畸形的处理原则：对可疑患者，建议进行内分泌检查、免疫学检查、细胞遗传学检查和基因诊断。部分患者有家族史。对于患者的处理原则是首先考虑患者的表型和社会性别。治疗不以核型性别为依据，除非婴儿，一般不主张改变社会性别。确定性别后采用手术矫治，辅以激素替代疗法。对有恶变倾向的性腺应尽早切除。

三、携带者

携带者指带有染色体结构异常但表型正常的个体。在欧美其发生率为0.25%，即200对夫妇中有1人为携带者；国内统计发生率为0.47%。因此，为防止染色体病患儿出生，检出携带者及进行产前诊断在我国具有重要的意义。

第三节 单基因遗传与单基因遗传病

单基因遗传病（monogenic disease）又称孟德尔遗传病，是指某种疾病的发生受一对等位基因控制。根据致病基因是显性的或隐性的以及所处的染色体的种类可分为常染色体显性遗传病、常染色体隐性遗传病、X连锁显性遗传病、X连锁隐性遗传病、Y染色体遗传病等多种类型。

临床上用A表示致病的显性基因（dominant gene），用a表示隐性基因（recessive gene）。等位基因是指位于同源染色体同一座位上不同形式的基因。控制性状的基因即其等位基因，表现出来的性状，称为表现型或表型（phenotype）。控制各种表现型的遗传组成称为基因型或遗传型（genotype）。

临床上研究人类遗传方式的最常见方法是系谱分析法。所谓系谱（或系谱图）是从先证者入手，追溯调查其所有家族成员（直系亲属和旁系亲属）的亲属关系和某种遗传病（或性状）的分布等资料，按照一定的格式将这些资料绘制成的图解（常用系谱绘制符号见图5-9）。先证者是指家族中第一个就诊的患者，即第一个被发现的患病（或具有某种性状）成员。一个完整的系谱不仅包括家族中的所有某种疾病患者（或某种性状的个体），还包括家族中的正常成员。

目前国际通用的系谱符号见图5-9。

一、常染色体显性遗传

常染色体显性遗传（autosomal dominant inheritance，AD）指一种遗传性状或遗传病有关的基因位于常染色体上，其性质是显性的，即该基因处于杂合状态时，个体就足以显示该基因控制的性状或疾病。由这种致病基因导致的疾病称为常染色体显性遗传病。

1. 完全显性遗传

完全显性（complete dominance）遗传指致病基因在杂合状态（Aa）时，表现出与纯合子（AA）完全一样的显性性状或遗传病者，该显性性状称为完全显性。

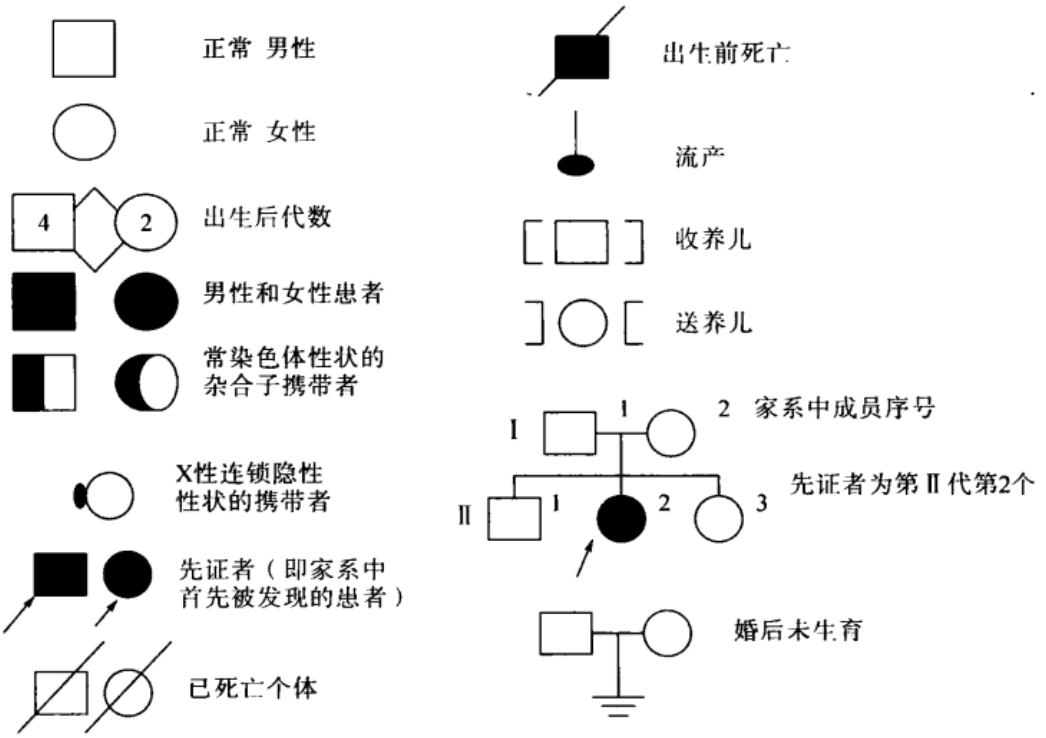


图 5－9　系谱中常用的符号

常染色体完全显性遗传的特点为：①患者双亲中有患者，即连续几代发病；②杂合子患者与正常人婚配子女中约 1/2 发病，两个杂合子婚配子女中 3/4 发病；③男女发病机会大致均等；④患者双亲中无患者时，子女一般不患病（除非发生新的基因突变）。

下面以短指（趾）症为例说明常染色体完全显性遗传的特点。

短指症（brachydactyly）是较常见的手（脚）部畸形，本症由于指骨或掌骨变短，或指骨缺如，致使手指（脚趾）变短。系谱如图 5－10 所示，短指（趾）症在男、女性中都有发病，是由某对常染色体上的基因决定的。上述短指（趾）症状人的基因型是 Aa，正常人的基因型是 aa。基因型为 Aa 的人，两个基因不同，称为杂合子（heterozygote）。而基因型为 aa 或 AA 者，称为纯合子（homozygote）。因为 A 对 a 是显性的，基因 A 的作用在杂合子时表现出来，所以短指（趾）症的遗传方式是常染色体显性遗传。短指（趾）症的基因型有两种，纯合子（AA）和杂合子（Aa），它们在临床表现上无区别，故为完全显性。杂合子患者（Aa）和正常人（aa）婚配，后代中短指（趾）症患者与正常人的比例约为 1∶1，即后代中约有 1/2 子女发病，而当两个短指（趾）症杂合子患者婚配时，其后代中约有 3/4 的

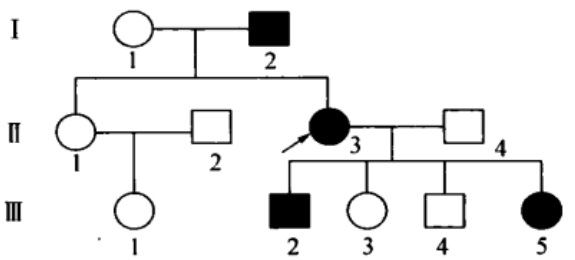


图 5－10　一例短指（趾）症系谱

子女将发病，他们的基因型分别为 1/4 为 AA，2/4 为 Aa，只有约 1/4 子女表型正常（aa）。上述系谱显示，患者基因型都是杂合子（Aa），他（她）们的致病基因 A 来自双亲中的一方，也就是说，双亲中的一方也具有致病基因 A，当然也是患者。即患者的双亲之一是患者，连续几代发病。

2. 不完全显性遗传

在常染色体显性遗传病中，如果杂合子（Aa）的症状较纯合子（AA）轻，这种遗传方式称为不完全显性（incomplete dominance）或半显性（semi-dominance）遗传，也称为中间型遗传（interme-diate inheritance）。这是因为杂合子（Aa）中的显性基因 A 和隐性基因 a 的作用都得到一定程度的表达。例如，软骨发育不全，其纯合子患者病情严重，多死于胎儿或新生儿期，临床上见到的软骨发育不全患者多为杂合子。

3. 共显性遗传

一对常染色体上的等位基因，彼此间没有显性和隐性的区别，在杂合状态时，两种基因控制的性状都能表现，这种遗传方式称为共显性（co-dominance）遗传。ABO 血型就是一个典型的例子（见第六章）。

4. 不规则显性遗传

带有显性基因的个体理应发病，但事实上并非完全如此，有些杂合子并不发病，这可能是因受修饰基因等因素的影响不表现出临床症状，失去显性特点而不外显，有时表现程度有差异，称为不规则显性（irregular dominance）遗传。

5. 延迟显性遗传

有些显性遗传病并非出生后即发病，而是到个体发育的较晚期才出现症状，这种情况称为延迟显性（delayed dominance）遗传。例如，慢性进行性舞蹈病（Huntington's chorea）为常染色体显性遗传病，杂合子（Aa）在 20 岁时只有 1%发病，40 岁时有 38%发病，60 岁时有 94%发病（如图 5－11 所示），即随着年龄的增高发病率不断提高。

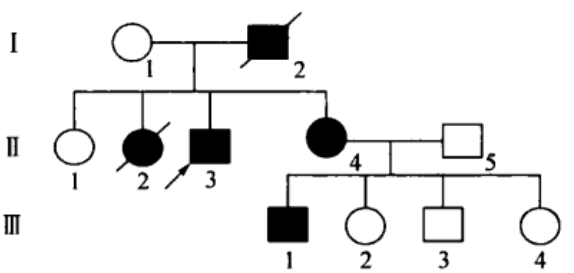


图 5－11 一例慢性进行性舞蹈病系谱

二、常染色体隐性遗传

控制某种遗传性状或遗传病的基因位于常染色体上，但在杂合状态时不表现相应性状，只有当致病基因处于纯合状态（aa）时才得以表现，称为常染色体隐性遗传（autosomal recessive inheritance，AR），这种致病基因所引起的疾病称为常染色体隐性遗传病（如图 5－12所示）。

常染色体隐性遗传的特点为：①患者的双亲如表现型正常，均为致病基因的肯定携带者。②患者同胞中约 1/4 个体发病，男女性发病机会均等。③患者的正常同胞中，有 2/3 的可能性为该病的致病基因携带者。患者的子女一般不发病，但都是携带者。④系谱中往往看

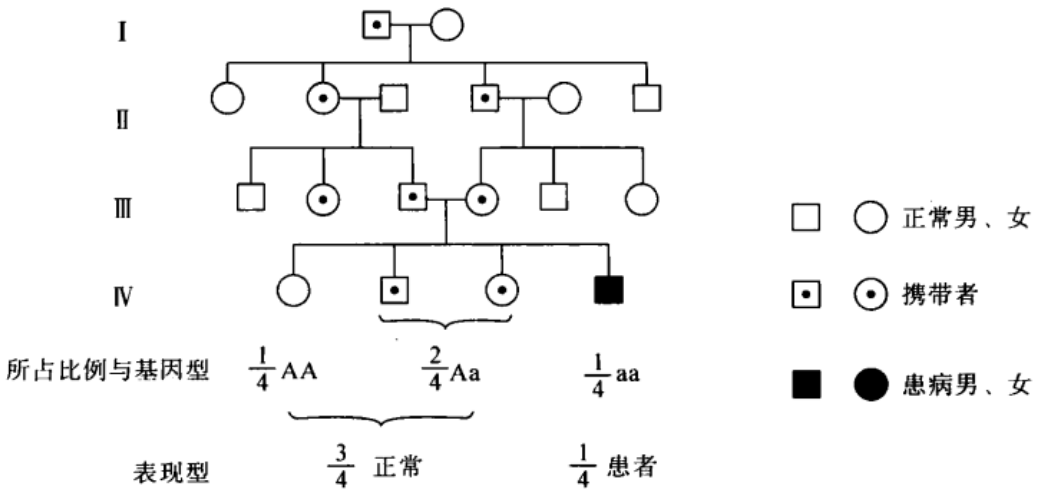


图 5－12　常染色体隐性遗传的典型系谱

不到连续遗传现象，常为散发。⑤近亲婚配的后代中发病概率明显提高，因为有共同的祖先，共同携带某种基因的比例高。

白化病（albinism）是一种常染色体隐性遗传病。由于全身黑色素细胞均缺乏黑色素，患者表现为皮肤、毛发呈白色。只有当一对等位基因是隐性致病基因纯合子（aa）时才发病。当一个个体为杂合状态（Aa）时，虽然本人不发病，但为致病基因携带者，他（她）能将致病基因 a 传给后代。因此，患者的父母双方都应是致病基因的肯定携带者（Aa）。如果两个杂合子（Aa）婚配，后代子女患者（aa）占 1/4，表型正常者占 3/4。表型正常的人中有2/3为杂合子（Aa），是致病基因的可能携带者（probable carrier）；1/3 基因型为正常纯合子（AA）。

患者与携带者婚配，子女发病风险为 1/2。

三、性连锁遗传

由于在男、女两性中性染色体的组成不同，男性为 XY，而女性为 XX。对于男性而言，X 染色体只有 1 条；而女性有 2 条 X 染色体。另外，由于男性的 X 染色体只传给女儿，Y 染色体只传给儿子，所以性染色体上的基因所控制的遗传性状或遗传病相对于常染色体上的基因所控制的遗传性状或遗传病来说有自己的特点。目前，已知的性连锁的致病基因大都在 X 染色体上。由性染色体的基因所决定的性状称为性连锁遗传（sex-linked inheritance）。

1. X 连锁隐性遗传

一种性状决定基因或遗传病致病基因位于 X 染色体上，且为隐性基因，则其遗传方式为 X 连锁隐性遗传（X-linked recessive inheritance，XR）。

在女性中，由于女性有两条 X 染色体，只有当两条 X 染色体上等位基因都是隐性致病基因纯合子（X^aX^a）时才发生疾病；而隐性致病基因杂合子（X^AX^a）的女性为表型正常的致病基因携带者。在男性中，因只有一条 X 染色体，Y 染色体上缺少同源基因，男性的细胞中只有成对的等位基因中的一个基因，故称为半合子（hemizygote），所以只要 X 染色体上有致病基因（X^aY）就发病。男性的 X 染色体及其连锁的基因只能从母亲传来，又只能传递给女儿，这种传递方式被称为交叉遗传。

以红绿色盲为例来说明 X 连锁隐性遗传特点（如图 5－13 所示）。色盲分全色盲（achromatopsia）和红绿色盲（dyschromatopsia of the protan and deutan）。前者不能辨别任何颜色，一般认为是常染色体隐性遗传；后者表现为对红色和绿色的辨别能力低下，呈 X 连锁隐性遗传。红绿色盲的男性发生率约为 7.0%，女性约为 0.5%。一名红绿色盲男性患者（X^bY）和正常辨色能力女性（X^BX^B）结婚，他们的女儿都从父亲那里获得一个 X^b 染色体，从母亲那里得到一条正常的 X^B 染色体而成为致病基因携带者（X^BX^b），他们的儿子则只从母亲那里获得一条 X^B，故辨色能力全部正常（X^BY）。凡携带致病基因的女性（X^BX^b）与正常辨色能力男性结婚，下一代中，儿子有一半是正常（X^BY）的，一半是红绿色盲（X^bY）；女儿中一半是致病基因携带者（X^BX^b），一半则完全正常（X^BX^B）。因此，男性患者的双亲表型都正常，但男性患者的母亲是致病基因的携带者，致病基因必定来自母亲携带者，他将来一定传给女儿；女性患者的父亲一定是患者，其母亲是致病基因携带者。这里可见“外公通过女儿传给外孙”的交叉遗传（criss-cross inheritance）现象。如果女性携带者（X^bX^b）与男性患者（X^bY）结婚，后代中，女儿 1/2 可能发病，1/2 可能为携带者，儿子中发病者和正常者各占 1/2。

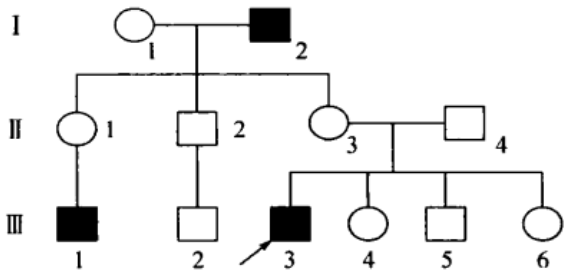


图 5－13 一例红绿色盲系谱

X 连锁隐性遗传的特点为：①男性患者远多于女性患者；②男性患者的双亲都无病，其致病基因来自携带者母亲；③由于交叉遗传，男性患者的同胞、舅父、姨表兄弟、外甥中常见到患者，偶见外祖父发病，在此情况下，男患者的舅父一般正常；④由于男性患者的子女都是正常的，所以代与代间可见明显的不连续（隔代遗传）。

2. X 连锁显性遗传

决定性状或遗传病的基因位于 X 染色体上，其性质为显性时，这种遗传方式称为 X 连锁显性遗传（X-linked dominant inheritance），这种疾病称为 X 连锁显性遗传病。目前所知 X 连锁显性遗传病不足 20 种。

由于致病基因为显性，并位于 X 染色体上，因此，不论男性（X^AY）和女性（X^AX^a、X^AX^A）只要含有一个致病基因 X^A 就会发病（如图 5－14 所示）。与常染色体显性遗传不同之处是，女性患者的儿子、女儿都可发病，且机会均等；而男性患者因只能将 X 染色体传给女儿，其上的致病基因也只能传给女儿，不传给儿子，所以只有女儿发病。因此，X 连锁显性遗传病的女性患者多于男性，大约为男性的 2 倍。另外，从临床上看，女性患者大多数是杂合子，病情一般较男性轻，而男性患者病情较重。

例如，抗维生素 D 佝偻病（viamin D resistant rickets，VDRR）是一种 X 连锁显性遗传病。VDRR 患者身体矮小，有时伴有佝偻病等各种表现。该病是一种以低磷酸血症导致骨发育障碍为特征的遗传性骨病，患者主要是肾远曲小管对磷元素的转运机制发生障碍，通过尿液排出的磷酸盐增多，血中磷酸盐浓度降低而影响骨质钙化。患者用常规剂量的维生素 D

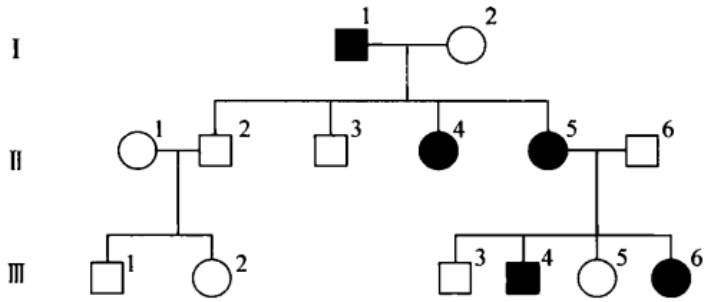


图 5－14　X 连锁显性遗传典型系谱

治疗不能奏效，故有抗维生素 D 佝偻病之称。临床观察发现，女性患者的病情较男性患者轻，多数只有血磷低下的表现，佝偻症状不太明显，表现为不完全显性。这可能是女性患者多为杂合子，其中正常 X 染色体的基因还发挥一定的作用。

X 连锁显性遗传的特点为：①女性患者多于男性；②患者双亲之一必定是患者，女性患者都是杂合子，她们的致病基因可传给儿子也可传给女儿，但男性患者的致病基因只传给女儿，因此系谱中男性患者的女儿全部发病；③可看到连续两代以上都有患者。

3. Y 连锁遗传病

致病基因位于 Y 染色体上，随 Y 染色体而遗传，从男性传递给男性，称为 Y 连锁遗传或全男性遗传。典型的 Y 连锁遗传的系谱如图 5－15 所示。

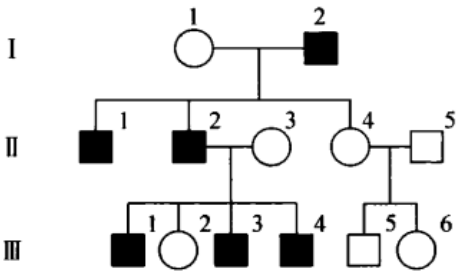


图 5－15　典型的 Y 连锁遗传的系谱

四、分析单基因遗传病发病时应该考虑的诸多因素

（一）表现度

表现度是指基因在个体中的表达程度。在不同遗传背景和环境因素的影响下，同一基因型的不同个体所表达的程度可有显著的差异。例如，多指（趾）症是一种常染色体显性遗传病，不同个体表现的多指（趾）数目不一，多指（趾）长短不一。

（二）外显率

外显率是指一定基因型的个体在特定的环境中形成相应表现型的比例，一般用百分率（%）来表示。外显率等于 100%者为完全外显，外显率低于 100%者为不完全外显或外显不全。如在 50 名杂合子中，有 40 名出现与显性基因相应的性状，另外 10 名未出现相应的性状，则该基因的外显率为 40/50×100%=80%。

外显率与表现度是两个不同的概念，其根本区别是外显率阐明了基因表达与否，表现度是指在表达的前提下的表现程度如何。二者可以在某些显性性状或疾病中同时存在，既有外

显率问题，又有表现度问题，进行遗传分析时应注意考虑诸多因素。

（三）基因的多效性

基因的多效性是指一个基因可以决定或影响多个性状。在生物个体的发育过程中，很多生理生化过程都是相互联系、相互依赖的。基因通过表达产物（蛋白质或酶）直接或间接影响组织器官的形成或代谢功能。例如，半乳糖血症是一种糖代谢异常症，患者既有智能发育不全等神经系统异常，又有黄疸、腹水、肝硬化等消化系统症状，甚至还可出现白内障。

（四）遗传异质性

遗传异质性是指性状相同而基因型不同的现象，或者说是一种性状可以由多个不同的基因控制，与基因的多效性相反。例如，先天性智力低下，既可以是苯丙酮尿症致病基因所致，也可以是半乳糖血症致病基因所致。先天性聋哑的遗传方式有常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传和 X 连锁隐性遗传。仅其常染色体隐性遗传型 1 型就有 35 个基因位点，只有纯合的基因位点才能导致先天性聋哑。两个先天性聋哑患者的基因位点不同婚配后，能生出听觉正常的子女，可见先天性聋哑具有高度的遗传异质性。

（五）遗传早现

遗传早现（anticipation）是指一些遗传病（通常为显性遗传病）在连续几代的传递中，发病年龄提前而且病情严重程度增加的现象。例如，遗传性小脑性运动共济失调综合征是一种常染色体显性遗传病，其发病年龄一般为 35～40 岁，临床表现早期为行走困难、站立时摇摆不定、语言不清，晚期为下肢瘫痪。在一个家系中，曾祖父 39 岁开始发病，他的儿子 38 岁开始发病，他的孙子 30 岁发病，他的曾孙 23 岁就已瘫痪。

（六）从性遗传

从性遗传的基因位于常染色体上，且致病基因性质仍有显性和隐性之别。这种常染色体上的基因所控制的性状显著受性别影响，在男性和女性中症状出现的比例或表现程度显著不同，即同样的基因型由于性别不同而表现型不同。这种遗传方式称为从性遗传。从性遗传和性连锁遗传的表现都与性别有密切关系，但它们却有本质的区别：性连锁遗传的基因位于性染色体上，疾病的发生与性别有关，与基因的显、隐性有关。

例如，原发性血色病（primary hematochromatosis）是一种从性遗传方式。本病为一种遗传性代谢障碍，其典型症状是皮肤色素沉着、肝硬化、糖尿病三联综合征。该病是由于含铁血黄素在组织中大量沉积，造成多种器官损害所致。症状发生较迟，是由于铁质蓄积达到 15 g～30 g 方产生症状，所以 80％的患者在 40 岁以后发病。本病致病基因在常染色体上，但男性发病率高出女性 10～20 倍，而且女性发病较迟。这是因为女性通过月经、妊娠和哺乳，一生中可丧失铁 10 g～35 g，故难以表现铁质沉着症状。

遗传性早秃（hereditary alopecia）是从性遗传的又一例子。遗传性早秃为常染色体显性遗传病，男性显著多于女性。女性仅表现为头发稀疏，极少全秃，杂合子（Bb）男性会出现早秃；相反，女性杂合子（Bb）不出现早秃，只有纯合子（BB）才出现早秃。

（七）限性遗传

一种遗传性状或遗传病的致病基因位于常染色体或性染色体上，其性质可以是显性或隐性，但只限定在一种性别中表现，而在另一性别完全不能表现，只是这些致病基因都可以向后代传递，这种遗传方式称为限性遗传。例如，女性的子宫阴道积液症、男性的前列腺

癌等。

（八）遗传印记

在正常孟德尔式遗传中，理论上来自父方或母方的基因所产生的表型效应是相同的，即同一个基因不管来自父方还是母方，都能同样表达，产生同样的作用。而实际情况发现，有些基因当其来自不同的亲本时其功能或表型效应可以不同，即这些基因是被父亲或母亲“印记”了的，称为遗传印记（genetic imprinting）或基因组印记（genomic imprinting）。目前至少已发现数十种遗传病存在着遗传印记现象，这种现象难以用经典的孟德尔定律来解释，也不能用性连锁遗传、线粒体遗传及多基因遗传来回答。遗传印记是由于在不同的生殖细胞分化成熟过程中特定基因或基因群受到不同修饰的结果，一些基因在精子生成过程中被印记，另一些基因在卵子生成过程中被印记。被印记了的基因，它们的表达受到抑制。DNA的甲基化可能是遗传印记的分子机制之一。一些基因在精子和卵子中甲基化程度不同，高度甲基化（被印记）的基因不表达或表达程度降低，当胚胎发育过程中发生去甲基化时，这些基因即开始表达。总之，基因的印记影响到性状或许多遗传病和肿瘤的发生，影响发病年龄、外显率、表现度，甚至遗传方式。对某些不能用经典孟德尔定律解释的遗传现象，用遗传印记可以得到合理解释。

例如，Prader－Willi综合征（PWS）和Angelman综合征（AS）是两种不同的遗传病，但都有共同的15q11－13缺失。父源染色体缺失时临床上表现为PWS，而母源染色体缺失时表现为AS。这提示来源不同的等位基因有不同的表达。某些常染色体显性遗传病的发病年龄和病情轻重似乎与传递基因的亲本有关。慢性进行性舞蹈病患者发病年龄一般在30～50岁，但父亲遗传者5%～10%患者在20岁以前发病，且病情严重；母亲遗传者，子女发病年龄多在40～50岁。囊性纤维化（cystic fibrosis，CF）是一种常染色体隐性遗传病，已发现某些CF患者的两条7号染色体均来自母亲，即单亲二体性（uniparental disomy，UPD）。人类的胚胎发育也有类似现象，拥有父源两套染色体的受精卵发育成葡萄胎，而拥有母源两套染色体的受精卵发育成卵巢畸胎瘤。此外，无论是双雄三倍体还是双雌三倍体都发育成畸形胎儿。因此，正常的胚胎发育必须拥有亲代双方染色体或基因组。一些胚胎性肿瘤中也存在亲源性非随机的染色体或基因丢失现象，而且主要是母源染色体的丢失。例如，散发的肾母细胞瘤（Wilms tumor）有11p13－15的基因丢失，且皆来自母方，而遗传型基因丢失多来自父方；遗传型视网膜母细胞瘤（Rb）中有13q14杂合性丢失（LOH），且丢失的多为母源Rb基因。

（九）动态突变疾病

动态突变疾病（dynamic disease）是由于基因编码区或非编码区的CGG、CTG、CAG等三核苷酸重复序列拷贝数增加或过度扩展引起的一系列疾病。这类疾病发病率较高，危害严重且难以治疗。例如，常染色体显性小脑共济失调，仅由于SCA3的CAG重复序列扩展引起的一种亚型，发病率就高达1/4 000。这类疾病一般还具有遗传早现和遗传印记现象，是因为致病的基因突变在世代传递过程中不稳定，三核苷酸重复的拷贝数易进一步扩大。常见的动态突变疾病有脆性X综合征、强直性肌营养不良、亨廷顿舞蹈征（Huntington's disease，HD）、肯尼迪病、常染色体显性小脑共济失调、齿状核红核苍白球路易体萎缩症、Machado－Joseph病等。此外，在一些肿瘤患者中也发现有三核苷酸重复序列拷贝数增加或过度扩展。某些类型的精神疾病如双向情感性精神病、某些类型的精神分裂症、孤僻症等也

有遗传早现现象，它们也可能与动态突变有关。因而，动态突变可能是一种较普遍的现象，动态突变疾病是医学上一类非常重要的疾病。

五、常见单基因病举例

（一）血红蛋白病

血红蛋白病（hemoglobinopathy）是指由于珠蛋白分子的结构或合成量异常所引起的疾病。血红蛋白病可分为两大类，即异常血红蛋白病和珠蛋白生成障碍性贫血（地中海贫血）。

异常血红蛋白病是指珠蛋白肽链结构和功能异常者；珠蛋白生成障碍性贫血是指珠蛋白肽链合成速率降低，导致α链和非α链合成的不平衡，引起溶血性贫血者。

1. 镰形细胞病

镰形细胞病（sickle cell disease）又称为HbS病，呈常染色体隐性遗传。该病是由于β链第6位谷氨酸被缬氨酸取代，珠蛋白肽链结构异常，导致的异常血红蛋白病。生育过患儿的双亲是镰形细胞病致病基因携带者，再生育患儿的风险为1/4。

2. 地中海贫血

由于珠蛋白基因缺失或突变导致某种珠蛋白链合成障碍，造成α链和β链合成失去平衡而导致的溶血性贫血称为地中海贫血（thalassemia）。根据合成障碍的肽链不同，可把地中海贫血分为α和β地中海贫血两类。此外，还有少见的δβ和γβ地中海贫血。

（1）α地中海贫血（α-thalassemia，简称α地贫）：是由于α珠蛋白基因的缺失或缺陷使α珠蛋白链（简称α链）的缺乏而引起的溶血性贫血，是世界上最常见的单基因遗传病之一。在我国长江以南的广大地域为α地贫的高发区，其中广西、广东、海南最为常见。α地贫符合常染色体不完全显性遗传。α珠蛋白基因位于16号染色体上，每条16号染色体上各有两个紧密连锁的α基因。正常二倍体细胞含4个α基因。如果一条16号染色体上的2个α基因都缺失，称α^0地贫；如果一条16号染色体上的2个α基因中只缺失1个，称α^+地贫；一个个体的两条16号染色体上α基因均缺失，称Bart's水肿；如果一个个体缺少3个α基因，称HbH病。α^0地贫和α^+地贫一般没有症状。双亲为α^0地贫基因者，生育Bart's水肿患儿的风险为1/4。双亲中一方为α^0地贫基因者，另一方为α^+地贫基因者，生育HbH病患儿的风险为1/4。α地贫产前诊断主要针对有生育Bart's水肿胎儿风险的夫妇。

（2）β地中海贫血（β-thalassemia，简称β地贫）：是由于β珠蛋白基因的缺失或缺陷使β珠蛋白链（简称β链）缺乏而引起的溶血性贫血，是世界上最常见的单基因遗传病之一。β地贫的高发区与α地贫相似。β地贫符合常染色体隐性遗传。β珠蛋白基因位于11号染色体上，每条11号染色体上有1个β基因。β珠蛋白生成障碍性贫血多数是基因突变引起转录翻译障碍或转录产物加工缺陷所致。β链合成障碍，产生两种类型β地贫：完全不能合成β链的称为β^0地贫，能合成部分β链的称为β^+地贫。我国南方高发地区发生α地贫复合β地贫较常见（广东省检出率为0.26%）。生育过β地贫纯合子患儿的夫妇，再生育患儿的风险为1/4。

（二）免疫缺陷病

免疫缺陷病（immunodeficiency）是指免疫系统功能障碍引起的一类疾病，可分为遗传性（原发性）与继发性两大类。根据参与免疫反应的细胞又可分为B细胞和T细胞，以及联合免疫缺陷病。

1. 遗传性无丙种球蛋白血症

遗传性无丙种球蛋白血症（agammaglobulinemia）因 Bruton 最早报道，又称 Bruton 综合征，呈 X 连锁隐性遗传。患儿反复发生严重的细菌感染，但对病毒或真菌并无易感性。

2. 严重联合免疫缺陷病

严重联合免疫缺陷病（severe combined immunodeficiency SCID）是一类有遗传异质性的遗传性疾病，其遗传方式包括 X 连锁遗传（XL）和常染色体隐性遗传（AR）。本病主要表现为上呼吸道感染、肺炎、支气管炎，其次为肠炎、自身免疫性疾病（类风湿关节炎、系统性红斑狼疮）等。

（三）血友病

血友病（hemophilia）是一组遗传性凝血功能障碍的出血性疾病，分为甲、乙、丙三型以及血管性假性血友病（与凝血因子有关的出血性疾病）。其中以甲型血友病（血友病 A）较为多见。我国血友病发病率为 2.73/10 万（男性为 5.21/10 万、女性为 0.06/10 万）。甲型血友病遗传方式为 X 连锁隐性遗传；乙型血友病遗传方式为 X 连锁隐性遗传，由于杂合子Ⅸ因子活性仅为正常的 1/3，某些杂合子可出现症状，故其女性患者较甲型的多见；丙型血友病遗传方式为常染色体隐性遗传；血管性假性血友病遗传方式为常染色体显性遗传或常染色体隐性遗传。

（四）家族性高胆固醇血症

家族性高胆固醇血症是一种低密度脂蛋白受体缺陷遗传病，有单基因和多基因两种遗传方式。家族性高胆固醇血症的单基因遗传方式为常染色体不完全显性遗传病，是一种严重的脂质代谢缺陷病。临床上分为杂合子和纯合子型。杂合子型发病率为 1/500，纯合子型发病率为 1/10 万。纯合子临床表现重，杂合子临床表现较轻，外显率高（90%～100%）。

（五）葡萄糖－6－磷酸脱氢酶缺乏症

葡萄糖－6－磷酸脱氢酶（G－6－PD）缺乏症呈 X 连锁不完全显性遗传。男性患者为半合子，故酶活性严重缺乏；女性纯合子患者症状严重，杂合子患者临床上有不同的表现度。

（六）假性肥大型肌营养不良症

假性肥大型肌营养不良症包括 Duchenne 型肌营养不良症（DMD）和 Becker 型肌营养不良症（BMD）两种类型。DMD 和 BMD 是同一基因发生不同突变的后果。人群中 DMD 患者约 2/3 有家族史，呈 X 连锁隐性遗传；约有 1/3 患者为散发，是由基因新突变造成。DMD 是一种严重致残致死性 X 连锁隐性遗传病，活产男婴中发病率约为 1/3 500。BMD 发病率约为 DMD 的 1/10。

（七）睾丸女性化综合征

睾丸女性化综合征为最常见的男性假两性畸形。患者核型为 46，XY，有睾丸，能分泌雄激素，但雄激素受体基因发生突变，缺乏有功能的雄激素受体，使雄激素不能发生应有的效应。

（八）白化病

白化病（albinism）是一种黑色素代谢紊乱，不能产生黑色素终产物的遗传性疾病。白化病存在遗传异质性，已知白化病至少有 7 种不同类型。临床上将白化病分为全身型（眼皮肤白化病Ⅰ型和眼皮肤白化病Ⅱ型）及局部型（眼白化病）两大类。本病发病率为

1/（10 000～20 000）。眼皮肤白化病Ⅰ型和Ⅱ型呈常染色体隐性遗传，眼白化病主要为X连锁隐性遗传。

（九）遗传性甲状腺肿

遗传性甲状腺肿在国内的发病率约为1/7 000。本病呈常染色体隐性遗传。目前在我国大力推广新生儿甲状腺功能减退的筛查，采用甲状腺素替代治疗，改善其不良预后。

（十）苯丙酮尿症

苯丙酮尿症（phenylketouria，PKU）是一种严重氨基酸代谢缺陷病，呈常染色体隐性遗传。国外发病率为1/（4 500～100 000），我国群体发病率约为1/16 500。目前在我国大力推广新生儿苯丙酮尿症的筛查，采用低苯丙氨酸饮食治疗，改善其不良预后。

（十一）脆性X综合征

脆性X综合征（fragile X syndrome，FraX）是一种主要表现为智力低下的X连锁遗传病。患者（或女性携带者）的外周血淋巴细胞在低叶酸培养条件下出现脆性X染色体，即在Xq27－Xq28的交界处有呈细丝样部位，其细丝部位容易发生断裂，故称为脆性部位。资料显示，FraX综合征的发生率约占X连锁遗传智力低下的1/（2～3），仅次于唐氏综合征，在男性群体中检出率为1/（500～700）。

男性患者的主要临床表现为：大部分中度到重度智力低下；大耳朵、单耳轮，方额、大下颌和前额突出，腭弓高；80%性成熟后大睾丸；语言障碍，性情孤僻；青春期前有多动症，但随着年龄的增长多动症减少。

女性有两条X染色体，故杂合子的女性一般表现正常，但实际上约30%的女性携带者表现出轻度智力低下，该现象可以根据Lyon的X染色体失活假说来解释。

人群中的女性携带者约占女性总数的0.5‰，携带者生育男性患者的概率为50%。目前，脆性X综合征无特效治疗措施，主要通过早期特殊辅助教育，以及用中枢神经兴奋剂，可以改善青春前期的行为与语言障碍；对成年患者的治疗效果不明显。对女性携带者进行产前诊断是预防脆性X综合征的重要措施。

第四节　多基因遗传与多基因遗传病

人类有些性状如血压、身高、肤色等是遗传因素和环境因素共同作用下形成的。这些性状不是由一对等位基因控制的，而是受若干对基因所调控，这些基因都是共显性基因，每对基因对性状形成的作用是微小的，被称为微效基因。这些微效基因的作用累积起来在环境因素的作用下形成明显的表型效应。这种性状既受多对基因的调控，也受环境因素影响的遗传方式称为多基因遗传（polygenic inheritance）或多因子遗传。受多基因控制的疾病称为多基因遗传病（polygenic disorder）。

一、多基因遗传

（一）质量性状与数量性状

单基因遗传的性状是由一对基因控制的，不同个体之间的表型差异有质的变化，性状的

变异在一个群体中的分布也是不连续的，这样的性状称为质量性状（qualitative character）。质量性状在一个群体中的变异可以明显地划分为2个或3个亚群，各亚群之间的性状呈现出质的差异。多基因遗传的性状，不同个体之间表型差异只是量的变化，性状的变异在一个群体中的变异分布是连续的，只有一个峰，即平均值，又称为数量性状（quantitative character）。

（二）多基因遗传的特点

多基因遗传具有三个明显特点：①两个极端表型（纯种）个体杂交后，其子1代大部分为中间型，具有一定变异范围，是环境因素影响所致。②两个中间型杂交，即子1代杂交后，子2代大部分为中间型，但其变异范围要比子1代广泛，也可出现少量的极端个体。这是因为除环境因素外，基因的分离组合也有作用。③在随机杂交的群体中，变异范围很广，然而大多数个体接近中间型，极端个体很少。这是因为环境与遗传因素都起作用。

二、多基因遗传病

人类的一些常见疾病如高血压、糖尿病、冠状动脉粥样硬化、精神分裂症、哮喘、癫痫等，以及一些常见的先天性畸形如唇裂、腭裂、脊柱裂、无脑儿、先天性幽门狭窄等属于多基因遗传病。这类疾病的发病率大多超过1/1 000。其发病有一定的遗传基础，并常常表现出家族倾向，但又不同于单基因遗传病，不受孟德尔遗传规律的制约，患者同胞的发病率不遵循1/2或1/4的规律。多基因病群体发病率较单基因遗传病高，一般为1%～10%，而单基因遗传病的发病率一般为1/10 000。

（一）易患性、易感性与发病阈值

1. 易患性

在多基因遗传病中，遗传基础和环境因素共同作用决定着一个个体是否容易患某种疾病，这种在遗传基础和环境因素共同作用下患某种多基因遗传病的风险称为易患性（liability）。

2. 易感性

在多基因遗传病中，仅由遗传基础决定的一个个体患某种多基因遗传病的风险称为易感性（susceptibility）。易感性仅指个体具备了患病的遗传基础。若干微效致病基因的累加作用构成了患病个体的遗传基础。

3. 阈值

在环境条件相同的前提下，阈值代表了个体发病所必需的、最低的基因数量。在一个随机分布的群体中，大部分个体的易患性都接近平均值，易患性很高和很低的个体都很少。当一个个体的易患性达到一定限度时，这个个体就将患病，这个易患性限度称为阈值（threshold）。

（二）遗传率

在多基因遗传病中，易患性的高低受遗传因素和环境因素的双重影响，其中遗传基础所起作用的大小称为遗传率（heritability），遗传率一般用百分率（%）表示。因此，多基因遗传病的遗传率越高，遗传因素的作用就越大；遗传率越低，则环境因素的作用就越大。若一种多基因遗传病的易患性变异和发病完全由遗传因素决定，则遗传率为100%。有些多基因遗传病的遗传率为70%～80%，说明这些疾病中遗传因素在决定易患性变异和发病上有

重要作用，而环境因素的作用较小；另一些多基因遗传病的遗传率为30%～40%，表明这些疾病中环境因素在决定易患性变异和发病上有重要作用，而遗传因素的作用较小。

（三）多基因遗传病的特点

（1）具有家族聚集倾向，但无明显的遗传方式。因为在系谱分析中，它们不符合单基因遗传方式，既不符合常染色体显性和隐性遗传，也不符合X连锁遗传，同胞中发病率远低于1/2或1/4。但这些疾病及其在子代的再发风险确实比群体发病率高，表现出家族性聚集倾向。

（2）随亲属级别的降低，患者亲属发病风险迅速下降。在发病率低的疾病，这个特点更为明显。表5－2为一些多基因病患者不同级别亲属发病风险的比较。

表5－2 某些多基因遗传病患者不同级别亲属的发病风险比较

疾 病	群体发病率	发病风险			
		一卵双生	一级亲属	二级亲属	三级亲属
唇裂±腭裂	0.001	×400	×10	×7	×3
足内翻	0.001	×300	×25	×5	×2
神经管缺损	0.002		×8		×2
先天性髋关节脱臼	0.002	×200	×25	×3	×2
先天性幽门狭窄	0.005	×80	×10	×5	×1.5

（3）近亲婚配时，子女患病风险增高，但不如常染色体隐性遗传显著，这可能与多因子的累积效应有关。

（4）病情越重，患者越多，则再发风险越大，这说明遗传因素起着重要作用。

（5）当发病率存在性别差异时，表明发病率高的性别其阈值低，发病率低者其阈值高。即群体发病率低性别的患者，只有他们带有相当多的易患性基因时，其易患性才能超过阈值而发病。如果他们已发病，就表明他们已带有相当多的易患性基因，其后代的发病风险将会增高，尤其是与其性别相反的后代。群体发病率高的性别的患者，其后代中发病风险将较低，尤其是发病率低的性别的后代。先天性幽门狭窄患者，男性发病率是女性的5倍（男性为0.005，女性为0.001）。男性患者的儿子发病风险为5.5%，女儿发病风险为2.4%；相反，女性患者的儿子发病风险为19.4%，女儿风险为7.3%。

（四）多基因病再发风险估计

多基因病的再发风险涉及许多因素，分析时可从以下几方面考虑。

（1）应用Edward公式来估计发病风险：当群体发病率为0%，遗传率为70%～80%时，可以利用Edward公式来估计发病风险，即患者一级亲友再发风险 q_r 是群体再发风险 q_g 的平方根，即 $q_r=\sqrt{q_g}$。例如，腭裂在群体中的发病率为0.04%，遗传率为76%，患者一级亲属的发病率则为 $q_r=\sqrt{0.04}=0.2$。

（2）根据一般群体发病率、患者一级亲属发病率和遗传率的关系图解估计再发风险：图5－16可以指导根据一般群体发病率和遗传率估计患者一级亲属发病率，也可根据一般群体发病率和患者一级亲属发病率估计该病的遗传率。例如，无脑儿的群体发病率为0.2%，遗

传率为60%，在图解的横坐标上查出0.2点，经过该点做一直线与纵坐标平行，然后在图中找出遗传率为60%的斜线，这条斜线与经过0.2的垂直线相交于一点，从这个点再做一水平线与纵轴相交，该交点就是患者一级亲属的发病率，为2%～3%。

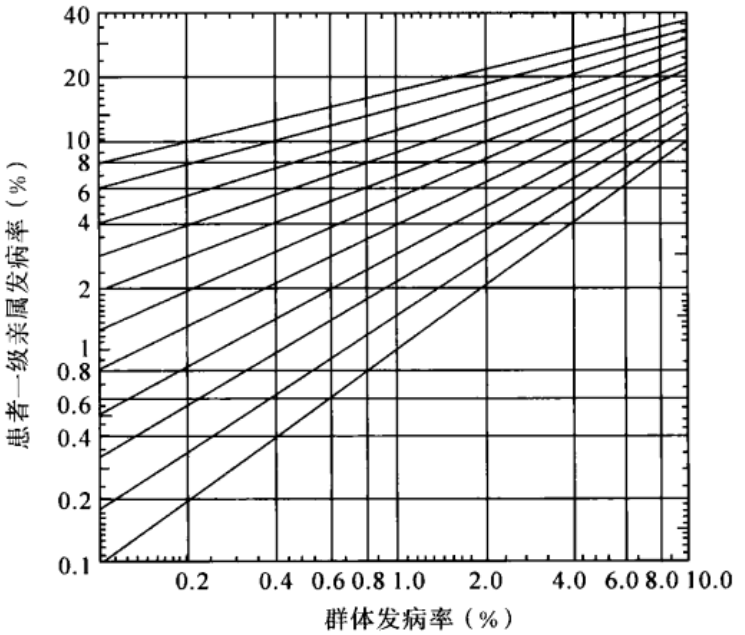


图5－16　一般群体发病率、遗传率与患者一级亲属发病率的关系图解

注：斜线代表遗传率（%）。

（3）再发风险与家庭中的患者人数、患者病情的严重程度有关。患病成员越多，病情越重，再发风险越大。

（4）再发风险与亲属级别有关：随着亲属级别的降低，再发风险也迅速降低。这是由于二级亲属易患性平均值位于一级亲属易患性平均值与群体易患性平均值的1/2处，三级亲属的易患性平均值位于二级亲属易患性平均值与一级亲属易患性平均值的1/2处，它们表现的是一种几何级数的关系。

（5）患病率存在性别差异时的再发风险：当一种多基因病的群体患病率存在性别差异时，表明不同性别的发病阈值不同。发病率低的性别必然携有较多的易感性基因，他们的同胞或子女再发风险也高，尤其是与患者性别相反者，风险将明显地增高，这种现象称为Carter效应。例如，先天性幽门狭窄在男性群体中发病率为0.5%，在女性群体中的发病率为0.1%，男性发病率是女性的5倍。女性患者的儿子再发风险为20%，女儿再发风险为7%；男性患者的儿子再发风险为5.5%，女儿再发风险为1.4%。

第五节　肿瘤与遗传

肿瘤是细胞异常增殖所形成的细胞群。肿瘤的病因十分复杂，与有些疾病一样，肿瘤是遗传因素和环境因素共同作用的结果。在同一种肿瘤中，遗传因素和环境因素所起的作用大

小不同。大量临床研究表明，环境中的许多有害因素如电离辐射、黄曲霉素、病毒等能诱发肿瘤的发生，但并不是所有接触致癌物质的个体都会发生肿瘤；还发现，患者的一级亲属的发病率显著高于群体的发病率。因此，认为肿瘤的发生与遗传因素关系密切。常见的恶性肿瘤是多基因遗传病，有少数肿瘤符合单基因遗传病。在肿瘤遗传学研究中，用人（肿瘤患者及其家属）作为研究对象较困难，进展也较缓慢。因为人的寿命长，后代数目少，世代相隔时间久，不能随机婚配等。这使肿瘤遗传的研究受到很大限制。近年来分子生物学和细胞学迅速发展，人们可在实验室内利用人类肿瘤离体细胞或其遗传物质（DNA）进行研究。目前，对某些肿瘤的发病机制已有了初步了解。环境因素与遗传因素相互作用是目前肿瘤病因学的研究方向。不少关于肿瘤的发病假说都涉及宿主的遗传基础。肿瘤与遗传的关系已成为现代生物学和医学遗传学的一个重要课题。

一、肿瘤发生的遗传学基础

细胞通过分裂与分化形成不同的细胞类型，并由此构建机体的组织和器官。细胞的生长是在调控系统精确的调节下进行的，一旦失去正常调控，细胞会以异常分裂增殖。由一群生长失去正常调控的细胞所形成的新生物称为肿瘤，包括良性肿瘤和恶性肿瘤。

肿瘤是细胞增殖失控造成的。人体基因在各种物理、化学因素下会自发或诱发突变，如果突变发生在与细胞增殖有关的基因，就可能导致细胞出现生长和增殖失去控制，发生恶性肿瘤。因此，肿瘤可以看做是在个体遗传素质的基础上，尤其是在个体对肿瘤的遗传易感性的基础上，致癌因子引起细胞遗传物质结构或功能异常的结果。许多肿瘤细胞群都具有相同的染色体畸变和同工酶，说明它们起源于单个突变细胞（单克隆），也说明了肿瘤是体细胞突变的结果。这种异常大多数不是由生殖细胞遗传得来的，而是在体细胞中新发生的，多数肿瘤可看成是一种体细胞遗传病。

（一）体细胞突变学说

20 世纪 70 年代，Knudson 在研究遗传性视网膜母细胞瘤发病机制时，提出了恶性肿瘤形成的二次突变假说。该假说认为，一些细胞的恶性转化需要两次或两次以上的突变。第一次突变可能发生在生殖细胞或由父母遗传而来（合子前突变），也可能发生在体细胞；第二次突变均发生在体细胞。在遗传性肿瘤中，如果第一次突变发生在生殖细胞，突变的生殖细胞受精后所发育个体的每一个体细胞都带有这种突变基因，该个体任何体细胞只要再发生一次突变（即第二次突变）就会发展成为肿瘤细胞。当这种细胞形成增殖优势，最后可演变为肿瘤。视网膜母细胞瘤有遗传型和非遗传型两种。遗传型的视网膜母细胞瘤发病很早，并多为双侧性或多发性。这是因为患儿出生时全身所有细胞已有一次基因突变，只要在出生后某个视网膜母细胞再发生一次突变（第二次突变），就会转变成为肿瘤细胞，故发病早，有双侧性和多发性。非遗传型的视网膜母细胞瘤的发生则需要同一个细胞在出生后积累两次突变，而且两次都发生在同一位置，因而概率很小，所以发病较晚、多为单侧性，并不具有遗传性。该学说对一些遗传性肿瘤，如视网膜母细胞瘤的发生作出了合理的解释。

一些学者认为，体细胞癌变并不一定有基因结构的改变，当基因以外的物质或因素如蛋白质、生物膜等发生了改变，而这些改变也能使与生长、分化有关的基因异常关闭或启动，此时，细胞也能转化为癌细胞。这一观点称为基因外调节学说。

（二）癌基因学说

基因的改变是肿瘤发生的分子基础，这些基因可分为两大类，即癌基因（oncogene）和

肿瘤抑制基因（tumor suppressor gene）或抑癌基因。癌基因起促进细胞的生长和增殖的作用；肿瘤抑制基因能抑制细胞的增殖和促进细胞的分化，从而抑制肿瘤的发生。这两类基因对细胞的作用正好相反。它们的异常导致细胞的异常生长和增殖，或去除正常的生长抑制，结果都会导致肿瘤发生。

1. 癌基因

能够使细胞癌变的基因统称为癌基因（oncogene）。在致瘤病毒、人体和动物肿瘤中都发现了能导致细胞恶性转化的核酸片段。来自病毒的致癌基因称为病毒癌基因，来自细胞的称为细胞癌基因。

人类原癌基因通过编码生长因子、生长因子受体和蛋白激酶，在生长信号的传递和细胞分裂中发挥作用；通过编码 DNA 结合蛋白而参与调节基因的表达或复制，从而调控细胞的生长、增殖等方面。按原癌基因的产物将其分为若干类型。例如，以 *src* 为代表的酪氨酸激酶类，以 *ras* 为代表的 *G* 蛋白类，以 *myc* 为代表的核蛋白类，以 *sis* 为代表的生长因子类，以 *erb* 为代表的生长因子受体类等。原癌基因在个体发育或细胞分裂的一定阶段十分重要，但在平时却不表达或表达受到严格的控制，当其发生突变或被异常激活时，产生的癌蛋白在性质或数量上发生异常，就可能导致细胞发生恶性转化。

正常情况下细胞癌基因不表达或微量表达，具有一定的生理功能，特别是在胚胎发育和组织再生的情况下。但是，在病毒感染、化学致癌物或辐射作用等致癌因子作用下，可以通过多种方式被激活，导致基因表达或过度表达，也可能在不该表达的时期进行表达。

（1）突变激活：原癌基因可以发生点突变而激活，成为癌基因。例如，在膀胱细胞株由于癌基因 *ras* 的 12 位密码子 GGC 变为 GTC，使甘氨酸变为缬氨酸，结果导致细胞具有转化成癌细胞的特征。现今已在膀胱癌、结肠癌等许多肿瘤发现了 *ras* 基因，后者编码一种蛋白，称为 *p*21 蛋白。

（2）易位激活：易位导致癌基因的重排或融合，产生异常的蛋白质而使细胞转化。例如，慢性粒细胞白血病的 9;22 易位，形成了一种结构与功能异常的融合基因 *bcr* －*abl*，它编码的蛋白质能促进细胞的恶性转化。

原癌基因通过易位插入到强启动子附近也可导致激活。Burkitt 淋巴瘤的 t(8;14) 即 *c* －*myc*癌基因由 8 号染色体易位到 14 号染色体的免疫球蛋白重链基因附近，使 *c* －*myc* 置于免疫球蛋白 H 链基因的启动子控制之下。该启动子特别活跃，因而易位的 *c* －*myc* 基因转录活性明显增高。增多的 *myc* 蛋白质使一些控制生长的基因活化，最终导致细胞恶变。

（3）癌基因扩增：原癌基因还可因某种原因自身扩增成多个拷贝，由于基因的剂量效应而过度表达癌蛋白，引起细胞恶变。例如，在有些肝癌细胞中 *c* －*myc* 癌基因可扩增数百到数千倍。

2. 肿瘤抑制基因

正常细胞基因组中存在调节细胞正常生长、抑制肿瘤形成的基因，称为肿瘤抑制基因或抑癌基因。一般认为，在细胞增殖调控中，大多数原癌基因具有促进作用（正调控作用），而肿瘤抑制基因则具有抑制作用（负调控作用）。这两类基因相互制约，维持细胞的正常生理功能。原癌基因的激活与过量表达与肿瘤的形成有关，而肿瘤抑制基因的丢失或失活同样可能导致肿瘤的发生。以视网膜细胞瘤的 *rb* 基因为例，遗传型视网膜母细胞瘤患者出生时 *rb* 基因的一个等位基因由于生殖细胞突变而丧失功能，出生后如某个视网膜母细胞中另一个 *rb* 基因的等位基因发生了体细胞突变，这个细胞就会转化为肿瘤细胞。不少的肿瘤研究

均已证实了相应的抑制基因的存在、缺失及其在肿瘤发病中的作用（见表 5－3）。这些肿瘤在临床上都呈常染色体显性遗传方式，但从基因水平上看，它们都是隐性的，因两个等位基因均有突变才能使细胞恶性转化。

表 5－3 肿瘤抑制基因及其产物

肿瘤抑制基因	染色体定位	基因产物及其功能	基因异常引起的肿瘤	
			遗传型	散发型
*p*53	17p13.1	*p*53，细胞周期调节	Li－Frameni 综合征	肺癌、乳腺癌等
*wt*1	11p13	锌脂蛋白，结合 DNA	Wilm 瘤	肺癌等
*rb*1	13q14	*p*110，细胞周期调节	视网膜母细胞瘤	骨肉瘤、小细胞肺癌等
*nf*1	17q11.2	GTP 酶活化蛋白	神经纤维病，I 型	

视网膜母细胞瘤（*rb*）基因定位于 13 号染色体 1 区 4 带，全长约 200 kb，有 27 个外显子，为编码 924 个氨基酸的核磷蛋白（*rb* 蛋白），分子量为 110 kd，具有抑制肿瘤细胞增殖、生长的作用。*rb* 基因的缺失或功能丧失不仅见于视网膜母细胞瘤，而且见于骨肉瘤、小细胞肺癌、乳腺癌等肿瘤中。

二、肿瘤发生模型

肿瘤发生是一个多阶段过程，往往涉及多个基因的结构和表达异常。早在 1983 年，Weinberg 等人就提出癌的发生是两种以上癌基因独自而又分阶段合作的过程。这个观点后来得到越来越多的实验结果的证实，并逐渐发展为被人们普遍认同的多步骤致癌假说，也称多步骤遗传损伤学说。在肿瘤发生发展的过程中既有肿瘤抑制基因的丢失，也有癌基因的活化。例如，结肠癌发生的过程中，就有多个基因的异常，其中包括 *ras* 癌基因和 *p*53、*apc*（anaphase promoting complex，APC）和 *mcc* 等几个肿瘤抑制基因。这些改变中，任何一种基因异常如果是遗传性的，就构成了该肿瘤的家族易感性的基础。

三、遗传性肿瘤的特点

遗传性肿瘤的特点仍然具有遗传性疾病的特点，最主要的是家族性。

1. 癌家族

癌家族（cancer family）是指一个家系中恶性肿瘤的发病率高（约 20%）、发病年龄较早，通常按常染色体显性方式遗传。有人曾经报告过一个癌家族，经过 70 多年间的五次调查，有些支系已传至第七代，在 842 名后裔中共发现 95 名癌症患者，其中患结肠腺癌（48 人）和子宫内膜腺癌（18 人）者占多数。这 95 人中有 13 人所患肿瘤为多发性，19 人发生于 40 岁之前；95 名患者中 72 人有双亲之一患癌症，男性与女性各为 47 和 48 人，接近 1∶1，符合常染色体显性遗传。

2. 家族性癌

家族性癌（familial carcinoma）是指一个家族内多个成员患同一类型的肿瘤。例如，12%～25%的结肠癌患者有肠癌家族史。许多常见肿瘤（如乳腺癌、肠癌、胃癌等）通常是散发的，但一部分患者有明显的家族史。此外，患者的一级亲属中发病率通常高于一般人群

3～4 倍。这类癌的遗传方式虽然还不很清楚，但表明一些肿瘤有家族聚集现象，或家族成员对这些肿瘤的易感性增高。例如，有人在对 77 对患白血病的双生子调查中发现，同卵双生者发病一致率非常高；在另一调查中，20 对同卵双生子均患同一部位的同样肿瘤。这也充分说明了遗传因素在肿瘤发病中的作用。

3. 肿瘤发生的种族差异

某些肿瘤的发病率在不同种族中有明显差异。种族是在地理、文化和遗传背景等方面相对隔离的人群。例如，中国人鼻咽癌发病率居世界首位，华裔人群鼻咽癌发病率也很高。调查发现，在新加坡的中国人、马来人和印度人鼻咽癌的发病率比例为 13.3∶3∶0.4；移居美国的华人鼻咽癌的发生率比美国白人高 34 倍。黑人很少患 Ewing 骨瘤、睾丸癌、皮肤癌，日本妇女患乳腺癌比白人少，但其患松果体瘤者却比其他民族的多 10 余倍。肿瘤发病率的种族差异主要原因是遗传基础不同，说明肿瘤发病中遗传因素的作用。

四、常见的遗传性肿瘤

（一）单基因遗传性肿瘤

1. 家族性结肠息肉

家族性结肠息肉（familial polyposis coli，FPC）又称为家族性腺瘤样息肉症，在人群中的发病率为 1/10 000。该类患者表现为青少年时结肠和直肠已有多发性息肉，其中一些早晚将发生恶变，90%未经治疗的患者将死于结肠癌。FPC 的基因定位于 5q21，呈常染色体显性遗传。

2. Ⅰ型神经纤维瘤

神经纤维瘤（neurofibromatosis，NF）是一类以牛奶咖啡色的皮肤色素斑和有多发性神经纤维瘤为特征的疾病总称。神经纤维瘤有多种亚型，以Ⅰ型神经纤维瘤（NF－1）最常见。Ⅰ型神经纤维瘤患者皮肤上则可见多个浅棕色的“牛奶咖啡斑”，腋窝有广泛的雀斑。神经纤维瘤可发生在中枢神经、周围神经，少数患者肿瘤还有恶变倾向。现知 NF－1 基因定位于 17q11.2，并已分离克隆，呈常染色体显性遗传。

3. 视网膜母细胞瘤

视网膜母细胞瘤（retinoblastoma，Rb）为婴儿时期易发的遗传性恶性肿瘤，是以视网膜内颗粒层或节细胞层和外颗粒层为起源的胚胎性恶性肿瘤。其为眼球视网膜的恶性肿瘤，多见于幼儿，大部分患者（70%）2 岁前就诊，发病率为 1/（15 000～28 000）。该肿瘤的恶性程度很高，可随血液循环转移，也能直接侵入颅内。约 1/3 的视网膜母细胞瘤为遗传型，2/3 为非遗传型。双侧者多为遗传型，单侧者多为非遗传型。遗传型视网膜母细胞瘤呈常染色体显性遗传。视网膜母细胞瘤的易感基因称为 *rb* 基因，定位于 13q14。

4. Wilms 瘤

Wilms 瘤即肾母细胞瘤（nephr oblastoma；或 wilms' Tumor，WT），是一种婴幼儿肾的恶性胚胎性肿瘤，约占全部肾肿瘤的 6%，活婴中的发病率约为 1/10 000，3/4 的肿瘤患者均在 4 岁以前发病。其也可分为遗传型（38%）和非遗传型（62%）。前者双侧肾肿瘤较多，发病年龄较早，呈常染色体显性遗传，有明显的家族聚集现象。患者可伴有虹膜症、半侧肥大、假两性畸形以及智力低下等。Wilms 瘤的发生具有遗传异质性，在不同的 Wilms 瘤家族患者中，常涉及 *wt*1 定位于 11p13、*wt*2 定位于 11p15。

（二）多基因遗传性肿瘤

1. 肝癌

原发性肝癌存在明显的家族聚集性和遗传易感性，其发病率明显呈现各代递减的现象，但高于群体发病率。肝癌发病男、女性比例为（2～5）∶1，发病多见于40～49岁年龄组人群，遗传率为73%。肝癌的细胞遗传学研究显示，肝癌患者中经常出现1、11号染色体结构重排；染色体脆性部位表达率高，尤其是3p14、4q31和6q26。

2. 肺癌

肺癌属于干细胞或干细胞样细胞转化为肿瘤的末期，这些细胞长期反复暴露于有大量致癌因子环境中。吸烟对肺癌的发生有重要的影响，其发病模式主要决定于吸烟暴露史。虽然遗传和其他环境因素导致肺癌的风险较小，但是这些因素与吸烟有协同作用。吸烟对鳞状细胞癌和小细胞肺癌的危险性最强。研究表明，芳烃羟化酶能在体内活化许多致癌的多环芳烃，包括从吸烟获得的各种芳烃，从而促进癌的发生。在大量吸烟而患肺癌的患者中，芳烃羟化酶的活性大于中等吸烟者，且都高于正常人；与吸烟无关的肺癌患者，其芳烃羟化酶的活性与正常人无异。芳烃羟化酶的活性决定于单基因A，该基因定位于2p23。肺癌的细胞遗传学研究显示，$1p^-$、$3p^-$和$6q^-$是原发性肺癌的共有特征；分子遗传学研究发现*k－ras*、*myc*等癌基因以及*rb*、*p*53等抑癌基因的改变。

3. 胃癌

胃癌是我国一种最常见的消化道恶性肿瘤。胃癌的细胞遗传学研究显示，胃癌患者中经常出现1、3、6、7、8、12、13和17号染色体结构重排；分子遗传学研究发现*c－erbB－2/neu*和*k－sam*等癌基因的扩增以及*p*53等抑癌基因的改变。

4. 乳腺癌

遗传型乳腺癌患者发病早，确诊年龄常小于50岁，或在绝经前，多为双侧发病，可伴有卵巢癌。乳腺癌也有男性发病。研究显示，月经初潮早以及闭经晚是乳腺癌的主要危险因子。

（三）染色体异常与肿瘤

大多数肿瘤细胞都有染色体异常，且被认为是癌细胞的特征之一。如果一种异常的染色体较多地出现在某一种肿瘤中，该染色体称为标志染色体。例如，慢性粒细胞白血病中的Ph小体（费城染色体）；视网膜母细胞瘤的i(6p)、13q14.1；Wilms瘤的11p中间缺失(11p13－p14)；鼻咽癌的t(1；3)(q41；p11)等。

有些染色体不属于某种肿瘤所特有。同一种肿瘤可以有不同的染色体异常；同样，同一类染色体异常可以出现在不同的肿瘤中。

五、具有易患肿瘤的某些遗传缺陷或遗传疾病

有些遗传缺陷或遗传疾病的个体具有易患肿瘤的倾向，肿瘤是这些遗传缺陷或遗传疾病表现的一部分。

1. Fanconi贫血

Fanconi贫血（Fanconi anemia，FA）属于常染色体隐性遗传病，发病率约为1/350 000。其表现为全血细胞减少，故又称先天性全血细胞减少症。患者有贫血、易疲乏、易出血和感染等症状，主要的身体和发育异常有骨骼畸形、脑损伤、心脏和胃肠缺陷、大拇

指或桡骨发育不良（或缺如）、皮肤色素沉着等。儿童期癌症发生的风险性增高，尤其易患急性白血病。

Fanconi 贫血患者的染色体自发断裂率明显增高，单体断裂、裂隙等染色单体畸变很多，双着丝粒染色体、核内复制也很常见。Fanconi 贫血具有遗传异质性，已知 *FA－A* 基因定位于 16q24.3；*FA－C* 基因定位于 9p13。

2. Bloom 综合征

Bloom 综合征（Bloom syndrome，BS）最早由 Bloom 报道。患者常见的临床表现为身材矮小、慢性感染、免疫功能缺陷、对日光敏感，故面部常有微血管扩张性红斑。患者多在 30 岁前发生肿瘤。Bloom 综合征多见于东欧犹太人的后裔，提示其发病具有明显的种族差异性。German 通过家系调查发现，本病符合常染色体隐性遗传方式。该病患者细胞遗传学显著特征是染色体不稳定性和基因组不稳定性。

Bloom 综合征的致病基因（*blm*）定位于 15q26.1。

3. 毛细血管扩张性共济失调

毛细血管扩张性共济失调（ataxia telangiectasia，AT）属于常染色体隐性遗传病，发病率为 1/（100 000～40 000）。1 岁左右即可发病，表现为小脑性共济失调。6 岁后眼和面、颈部出现瘤样小血管扩张。其他特征包括对放射线的杀伤作用异常敏感，常有免疫缺陷，患者常死于感染性疾病。毛细血管扩张性共济失调患者染色体不稳定性增加，有较多的染色体断裂。患者易患各种肿瘤，在 45 岁之前患肿瘤的概率比正常人群增加 3 倍，主要是淋巴细胞白血病、淋巴瘤、网织细胞肉瘤等。

1995 年，Shiloh 等发现毛细血管扩张性共济失调的患者都有一个相同的基因发生突变，推测该基因即为致病基因，命名为 *atm*，并克隆了部分序列。已发现在 AT 患者中，有 100 多种 AT 基因突变形式，分布于整个编码序列，其中绝大多数突变会造成 AT 基因的截断和大片段缺失，从而导致 AT 蛋白失活。

4. 着色性干皮病

着色性干皮病（xeroderma pigmentosum，XP）是一种罕见的、致死性的、常染色体隐性遗传病，发病率为 1/250 000，为一种早发的起源于皮肤上皮外层细胞（鳞状细胞）或内层细胞（基底细胞）的皮肤病。患者性发育不良、生长迟缓，伴智力障碍、小头和神经性耳聋。患者皮肤对紫外线辐射高度敏感，易出现多个皮疹和色素沉着，此处也常常是皮肤癌的发生部位。

患者染色体自发断裂率虽然没有增高，但在紫外线照射后明显上升，细胞也很容易死亡，存活下来的细胞由于 DNA 修复酶的缺陷而不能正常修复 DNA 的损伤，常导致血管瘤、基底细胞癌等肿瘤发生。着色性干皮病患者也易患其他类型肿瘤，包括黑色素瘤、角化棘皮瘤、肉瘤、腺癌等。

思考题

1. 简述遗传性疾病的概念及特点。
2. 遗传性疾病与先天性疾病及家族性疾病有何区别？
3. 常见的染色体病有哪些？对优生有何影响？
4. 简述单基因病的遗传特点、类型及对优生的影响。
5. 多基因遗传病有哪些遗传特点？

6. 为什么不能近亲结婚?
7. 简述癌基因和抑癌基因的概念，癌基因和抑癌基因的作用。
8. 简述肿瘤发生的体细胞突变学说。
9. 简述原癌基因激活机制。

（丁显平　李科生）

第六章　药物与遗传

人类的药物反应存在个体差异。性别相同、年龄相仿、体重相同的不同个体对同一种、同一剂量的药物反应性不同。例如，不同个体对水杨酸钠的耐受性相差可达 10 倍左右。1957 年 Motulsky 发现某些药物特异性反应与遗传有关，1959 年 Vogel 提出药物遗传学概念。药物遗传的研究对指导个性化用药，合理提高药物疗效，减少因遗传缺陷引起的不良反应等具有重要的意义。

第一节　药物代谢的遗传控制

药物在体内的代谢过程包括药物的吸收、运输、分布、转化、降解和排出等环节，每一个环节的完成都与一定的酶、受体及其他蛋白质的作用密切相关。这些蛋白质都是在特定基因控制下合成的，因此，机体内药物代谢的整个过程都是受遗传控制的。遗传因素对药物代谢的控制主要包括以下几个方面：

一、药物的吸收和分布

在机体内，大多数药物需要借助于细胞膜转运蛋白的转运才能被吸收到血液里，并且还要借助血浆蛋白的运输来完成其在机体内的分布。如果相应基因发生突变，使膜转运蛋白或血浆蛋白出现结构、功能的异常甚至缺失，便会影响药物的吸收和运输。

二、药物对靶细胞的作用

药物是通过与靶细胞受体结合而产生效应的，受体异常或缺如都会使药物不能发挥正常的作用。

三、药物的降解与转化

药物的降解和生物转化往往需要经过多步酶促反应，酶的异常会影响到药物的生物转化。酶活性降低，药物或中间产物贮积，会损害正常的生物功能；酶活性升高，药物降解速度过快，使药物在体内达不到有效浓度，从而影响药物疗效。

四、药物的排泄

药物发挥治疗作用后被降解，其代谢产物被排出体外，这个过程称药物的排泄。机体排泄药物的主要途径是肾脏，胃肠道、呼吸道、皮肤汗腺等参与排泄。遗传基础不同的人，其

药物排泄速度也可能不同，对相同剂量的药物就会有不同的反应和疗效。

第二节 异常药物反应的遗传基础

一、葡萄糖－6－磷酸脱氢酶缺乏症

葡萄糖－6－磷酸脱氢酶（glucose－6－phosphate dehydrogenase，G6PD）缺乏症是一种以急性溶血性贫血为主要临床特征的遗传病，常见于热带、亚热带地区，我国南方地区的发病率较高。G6PD缺乏症患者平时一般无症状，但在进食蚕豆或服用伯氨喹类药物后出现血红蛋白尿、黄疸、贫血等症状。故G6PD缺乏症又称为“蚕豆病”。

研究表明，红细胞内糖代谢以无氧酵解为主，还可以进行戊糖旁路代谢。正常情况下，G6PD可使葡萄糖－6－磷酸（G6P）脱氢，生成足够的还原型辅酶Ⅱ（NADPH）。NADPH使氧化型谷胱甘肽（GSSG）有效地变成还原型谷胱甘肽（GSH）。足量的还原型谷胱甘肽（GSH）可及时降解组织细胞代谢中氧化还原反应生成的过氧化氢（H_2O_2），以消除或减轻H_2O_2对红细胞膜蛋白及血红蛋白等的氧化作用。G6PD缺乏症患者由于体内缺乏G6PD，NADPH生成不足，导致GSH含量减少。当进食蚕豆食物或服用伯氨喹类、解热镇痛类、磺胺类等具有氧化作用的药物时，生成的H_2O_2不能被及时清除，过量的H_2O_2迅速破坏GSH。过量的H_2O_2氧化血红蛋白表面的β链上第93位氨基酸（半胱氨酸）的巯基，导致血红蛋白四聚体变性，形成珠蛋白小体（Heinz小体）；同时，H_2O_2氧化红细胞膜上蛋白，使红细胞的柔韧性降低而脆性增加，当这些红细胞通过狭窄的毛细血管及脾窦或肝窦时易挤压破裂，引发急性溶血反应。

G6PD缺乏症呈X连锁不完全显性遗传。女性患者较男性多，男性患者为半合子，故酶活性严重缺乏；女性患者多为杂合子，临床症状较轻。G6PD基因定位在Xq28，由13个外显子和12个内含子组成，编码515个氨基酸。现已知G6PD基因的主要突变形式是点突变，已发现的该基因不同位点的点突变达50种以上，其中有11种点突变是在中国人体内发现的；另外，还发现缺失型突变。

二、过氧化氢酶缺乏症

过氧化氢（H_2O_2）是临床上常用的一种创伤创面清洗消毒剂。正常情况下，当H_2O_2接触创口时，在组织中H_2O_2酶迅速分解H_2O_2，释放出氧，创面呈鲜红色，并有泡沫产生，起抗菌除臭作用。1946年，日本耳鼻喉科医生Takahara发现1名患者在用H_2O_2消毒口腔创面时，创面变成棕黑色，且无泡沫形成。Takahara认为这是由于患者的红细胞中缺乏H_2O_2酶而不能分解H_2O_2，致使伤口渗血中血红蛋白被氧化成棕黑色的高铁血红蛋白，同时没有泡沫产生，故将此病称为过氧化氢酶缺乏症（acatalasia）。过氧化氢酶缺乏症患者在不接触H_2O_2时一般无临床症状，但50%左右的患者有牙龈溃疡、坏疽、牙龈萎缩、牙齿松动等表现。

过氧化氢酶缺乏症呈常染色体隐性遗传。过氧化氢酶基因（*cat*）定位于11p13.5－13.6。人是由于*cat*基因在内含子4的第五位碱基发生了G—A突变，造成RNA剪接异常

所致。

目前已发现五种不同的过氧化氢酶缺乏症变异型。有研究发现，过氧化氢酶缺乏症在黄种人中发病率较高：日本某些地区的发病率高达1%，我国华北地区的发病率约为0.65%。

三、琥珀酰胆碱敏感性

琥珀酰胆碱是一种肌肉松弛剂，作用点在骨骼肌的神经肌肉接头处，能阻断神经冲动传递到肌纤维，故可使骨骼肌松弛，呼吸肌暂时麻痹，早期被作为外科麻醉剂使用。该药在体内作用时间很短，99%的患者在常规用药后2 min～3 min呼吸就会恢复正常，2 min～6 min肌肉的松弛现象消失。琥珀酰胆碱进入血液中后会很快被丁酰胆碱酯酶（又称伪胆碱酯酶）降解而失效。但少数个体（约1/2 000）接受常规剂量后，呼吸停止可持续1小时以上，严重者可引起死亡。这称为琥珀酰胆碱敏感性。出现这种异常药物反应的原因是患者血中丁酰胆碱酯酶活性低下，不能有效地水解琥珀酰胆碱，从而导致呼吸肌的持续麻痹。

琥珀酰胆碱敏感性呈常染色体隐性遗传。丁酰胆碱酯酶基因定位于3q96.1－96.2，包括4个外显子和3个内含子。目前已发现了该基因的多种突变类型，如第209位碱基发生A—G突变，导致酶蛋白电泳速度、热稳定性及抗原性的改变，影响丁酰胆碱酯酶对琥珀酰胆碱的水解作用。

四、异烟肼慢失活

异烟肼是临床上常用的抗结核药。在体内主要是通过N－乙酰基转移酶（简称乙酰化酶）将异烟肼转变成乙酰化异烟肼而失活。人群中大多数个体对异烟肼的失活速度基本相同，而少数人出现明显差异，其差异表现为两种类型：一类称为快失活型，血液中异烟肼半衰期为45 min～110 min；另一类为慢失活型，半衰期为2 h～4.5 h。研究证明，慢失活者是由于遗传性乙酰化酶缺乏所致。异烟肼慢失活型呈常染色体隐性遗传。人类的乙酰化酶基因已经被克隆出来，它是由*nat*1、*nat*2和*natp*（假基因）组成的基因簇，定位于8pter～q11。*nat*1和*nat*2基因高度同源，*nat*1主要负责某些芳香胺药物的N－乙酰化；*nat*2基因负责异烟肼等药物的失活。*nat*2基因的错义突变使其产物乙酰化结构不稳定，引起酶活性的降低。

不同地区、不同人种中异烟肼慢失活的发生率存在明显差异：埃及人约为83%，白种人和黑种人为49%～68%，黄种人为10%～30%。异烟肼失活的个体差异在指导临床用药有重要意义。长期服用异烟肼时，慢失活型个体由于代谢缓慢，导致异烟肼的累积，易发生多发性神经炎（80%）；而快失活型个体代谢快，发生多发性神经炎较少（20%）。

第三节　毒物质反应的遗传学基础

在多数情况下，药物和毒物并没有严格的界限。药物过量可引起中毒；少量毒物有时也可作为药物使用。环境中某些诱变剂、致癌剂或致畸剂在群体中引起不同的个体反应，某些个体对这些有害因子表现易感倾向。实际上，环境中各种有害因子在人体内的代谢途径也可能受特定基因型的制约。药物遗传学的某些原则，也可应用于研究毒物对不同基因型的中毒

效应。

一、酒精中毒

人们早已观察到，人类对酒精（乙醇）的耐受性有种族和个体差异，这种差异是由遗传因素决定的。对酒精敏感者，当摄入 0.3 mL/kg～0.5 mL/kg 酒精时，即可表现面红耳赤、皮温升高、脉搏加快等酒精中毒症状；而对酒精耐受者则无此症状。黄种人中 80％为酒精敏感者，白种人中仅 5％对酒精敏感。

酒精在体内的代谢过程主要由肝中的乙醇脱氢酶（alcohol dehydrogenase，ADH）和乙醛脱氢酶（aldehyde dehydrogenase，ALDH）所制约，反应生成的中间产物乙醛可刺激肾上腺素、去甲肾上腺素等激素的分泌，引起面红耳赤、心率快、皮温高等表现。

ADH 是二聚体，由 α、β、γ3 种亚单位组成。α、β、γ 分别由 ADH1、ADH2、ADH3 基因编码。成人主要是 β 链二聚体。ADH2 具有多态性，大多数白种人为 ADH21，由 β1β1 组成；而 90％黄种人为 ADH22 由 β1 的变异肽链 β2（47 位半胱氨酸→组氨酸）组成（β2β2）。β2β2 的酶活性约为 β1β1 的 100 倍，故大多数白种人在饮酒后产生乙醛较慢，而黄种人积蓄乙醛速度较快。

ALDH 亦有 2 种同工酶：ALDH1 和 ALDH2。黄种人中有 3 种表型：①普通型，ALDH1 与 ALDH2 均有；②常见“非经典型”，仅有 ALDH1，无 ALDH2；③罕见“非经典型”，仅有 ALDH2，无 ALDH1，只在个别日本人中发现。几乎所有的白种人都为普通型。ALDH2 活性较 ALDH1 活性高。

具有 ADH2 及 ALDH1 者对酒精最敏感，具有 ADH1 及 ALDH1 者次之，具有 ADH2 及 ALDH2 者最不敏感。这是黄种人较白种人易产生酒精中毒的原因。

综上所述，黄种人较白种人易产生酒精中毒的原因是遗传因素决定的。大多数黄种人在饮酒后产生乙醛速度快，而氧化为乙酸的速度慢，故易产生乙醛蓄积中毒。

二、吸烟与肺部疾病

慢性支气管炎（chronic bronchitis）合并肺气肿（emphysema）或支气管哮喘（bronchial asthma）统称为慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）。这类疾病以肺泡破坏、融合、呼吸面减少而导致缺氧甚至肺心病为特征。大量调查表明，COPD 的发生与吸烟有关。这是由于吸烟刺激巨噬细胞和中性粒细胞释放弹性蛋白酶，从而分解肺弹性蛋白造成的，但并非吸烟者都患 COPD。现在知道，COPD 的产生也有一定的遗传基础。

正常人机体内存在一组能抑制蛋白酶活性的多肽和蛋白质，称为蛋白抑制物（proteinase inhibitors），广泛分布于各种组织，以内分泌腺和血浆中含量最高。α_1 抗胰蛋白酶（α_1－antirtypsin，α_1AT）是血清中主要的蛋白酶抑制因子，能抑制多种蛋白酶活性。

α_1AT 基因位于染色体 14q32.1，全长为10 226 bp，含有 5 个外显子，编码 394 个氨基酸。α_1AT 是一种急性反应蛋白，主要功能为保护组织免受蛋白酶的损伤。正常 α_1AT 的反应中心处于暴露位置，当与蛋白酶作用时，第 358 位甲硫氨酸（反应中心）与 359 位丝氨酸之间的肽链发生断裂，环状结构被破坏，与蛋白酶形成一稳定的复合物，从而使其失去活性。

血清电泳表明，α_1AT 存在遗传多态性，至少有 33 种变异型。每种变异型对蛋白酶抑

制活性都不相同。例如，ZZ 型为羧基端第 53 位谷氨酸被酪氨酸所取代（C→T）。调查显示，COPD 患者中 ZZ 型频率较正常人中的 ZZ 型频率高 43 倍。ZZ 型者由于缺乏 α_1AT 活性，吸烟诱导产生的弹性蛋白不能受到有效的抑制，从而“消化”肺泡导致 COPD 产生。此外，现已证明 ZZ 型者易患新生儿肝炎、不明原因的肝硬化及慢性活动性肝炎。例如，新生儿肝炎中 20%为 ZZ 型婴儿，原因不明。

三、吸烟与肺癌

众所周知，吸烟者易患肺癌，但并非所有嗜烟者均患肺癌。有证据表明，吸烟者是否患肺癌与个体的遗传基础可能有关。

烟叶中含有致癌的多环苯蒽化合物，但致癌性较弱，进入机体后通过细胞微粒体中芳烃羟化酶（aryl hydrocarbon hydroxylase，AHH）的作用可转变为具有较高致癌活性的致癌环氧化物。此外，苯蒽化合物还有诱导 AHH 活性作用。其诱导作用的高低因人而异，受遗传因素决定。人群中可区分为高诱导组、中等诱导组和低诱导组。据调查，如果以低诱导组发生肺癌的易感性为 1，中诱导组为 16 倍，高诱导组则高达 36 倍。

思考题

1. 根据你知道的遗传学知识，请解释为何要提倡个体化用药？
2. 酗酒和吸烟对机体有什么危害？

（丁显平　李科生　魏霞）

第七章 人类代谢和发育中的遗传学问题

第一节 先天性代谢缺陷及代谢病

先天性代谢缺陷（inborn errors of metabolism）是指由于基因突变导致酶在质量上的改变，通过所催化的酶促反应的变化所造成的一类疾病。从分子水平上来看，酶的缺陷可能有两种原因：一是由于编码酶蛋白的结构基因发生突变，引起酶蛋白结构异常或缺失；二是基因的调控系统发生异常，使之合成过少或过多的酶，造成代谢率改变。这种主要由酶缺乏引起的疾病，又称为遗传性代谢病，是1900年英国医生Garrod在研究黑酸尿症、白化病、胱氨酸尿症时首先提出来的。目前已发现千余种遗传性代谢病，其中200余种酶缺陷已被研究清楚。遗传性代谢病多为单基因遗传性疾病，其中以常染色体隐性遗传最多见（占80%），少数为常染色体显性遗传、X连锁遗传等。

一、遗传性代谢病的主要类型

遗传性代谢病病种繁多，目前已发现1 000余种。不同类型的遗传性代谢病发病率随病种、地区和种族差异而变化很大。例如，先天性甲状腺功能低下发病率较高（1/4 000～1/2 000）；国外苯丙酮尿症（PKU）为1/(4 500～100 000)，我国为1/16 500。随着诊断技术的提高，更多新的病种被发现，已报告过的各类疾病的流行病学资料也得到了证实或修改。例如，有机酸代谢异常，以前由于许多患儿原因不明死亡而难以确诊，被认为发病率很低，而近年的调查结果显示其总体发病率可能与氨基酸代谢病接近。

根据异常代谢物的分子大小，可将遗传代谢病分为两类：①小分子病。例如，氨基酸病、有机酸代谢异常、单糖类代谢病等。这类代谢病的特点是起病较早，在新生儿期起病者可表现为急性脑病。②大分子病，又称沉积症。例如，糖原病、脂类代谢病、黏多糖病、糖蛋白病等。其特点是在较大婴儿或儿童期起病，病程多为慢性、进行性过程。

二、遗传性代谢病的发病机制

人体内的物质代谢需经一步步的连锁反应，最后形成代谢终产物。如图7－1所示，假定人体内的A物质在AB酶的作用下产生中间产物B物质，在BC酶的作用下产生C物质，在CD酶的作用下产生最后产物D物质，则A物质为底物，B、C物质为中间产物，D物质为终产物。上述步骤中缺乏任何一种酶，则可出现某种物质的缺乏或增多。例如，AB酶缺乏，则A物质（底物）增加，A—B反应不能正常进行；BC酶缺乏，则中间产物B积累，

B—C 反应不能进行，B 物质增多，C 物质、D 物质减少；CD 酶缺乏，则 C—D 反应不能正常进行，C 物质增加，D 物质（终产物）减少。这就是基因突变致遗传性代谢病的发病基本机制。

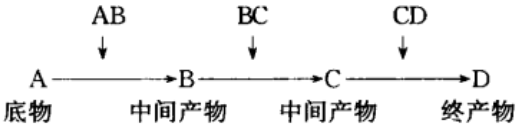


图 7－1　物质代谢路径

遗传性代谢病的根本病因是基因突变所引起的酶活性降低或缺乏。其对机体的不良影响及发病机制可表现为以下一个或几个方面：①代谢终产物缺乏。正常产物合成不足或完全不能产生，临床上出现相应症状。例如，酪氨酸酶活性减低而致黑色素形成缺乏，则发生白化病；先天性肾上腺皮质增生症时，由于 21－羟化酶缺乏而致皮质醇合成障碍，出现肾上腺皮质功能不全。②底物蓄积。代谢阻滞后，生化反应的反应物在细胞内蓄积，引起细胞、器官肿大，进一步引起毒性反应和代谢紊乱。例如，糖原病Ⅰ型患者的葡萄糖－6－磷酸酶缺陷，糖原分解受阻，蓄积于肝内而使之肿大，同时由于葡萄糖形成不足，而有低血糖和细胞能量代谢受累。③次要的代谢途径加强，中间代谢产物增加。例如，苯丙酮尿症时，苯丙氨酸羟化酶缺陷，除了苯丙氨酸在体内蓄积以外，由次要代谢途径（旁路）形成的大量苯丙酮酸等也蓄积体内，引起毒性作用。此外，物质的转运功能障碍也是某些遗传性代谢病的发生机制之一。细胞膜有主动转运系统，由细胞膜的酶和细胞内能量系统共同作用而将生化物质由膜的一侧转运至另一侧。膜的转运功能障碍易见于有特殊功能的细胞，如肠道黏膜和肾曲小管的细胞，引起物质吸收或回收障碍。肠道对中性氨基酸的转运异常即属此类。无机分子也可有转运障碍，如肾小管酸中毒、磷酸尿性佝偻病等。

三、遗传性代谢病的临床表现特点

遗传性代谢病的表现复杂多样，病情程度不一，体内任何器官和系统均可受累。临床诊断较复杂，应仔细观察，将病史、家族史、发病年龄和病程特点作全面分析。

病史和家族史分析中应注意：①同胞或近亲是否有相似疾病；②同胞或近亲是否有智力低下；③患儿是否有智力低下、惊厥发作等进行性神经系统变性症状，但不伴明显畸形；④婴儿期或新生儿期是否有反复发作的急性代谢性脑病表现。

提示有遗传性代谢病的临床特征，按身体各系统的分布来看，神经系统受累的频率最高，多数遗传性代谢病伴有神经系统异常，约 1/3 以上的病种以神经系统异常为主要表现。遗传性代谢病的常见临床表现如下：

（1）神经系统异常：主要表现是智力落后和惊厥发作，也可有脑瘫、共济失调、锥体外系运动障碍等进行性神经系统变性。

（2）代谢性酸中毒和酮症：主要见于小分子代谢病，如有机酸代谢病、氨基酸病和单糖类代谢异常，起病早，症状危重。

（3）严重呕吐：常与进食蛋白质有关，见于枫糖尿症等氨基酸病、有机酸代谢病、尿素循环缺陷。

（4）肝大或肝功能不全：见于糖原病、半乳糖血症、黏多糖病（Ⅰ～Ⅲ型）、神经鞘脂病、肝豆状核变性等。

（5）特殊气味：主要见于氨基酸和有机酸代谢异常。苯丙酮尿症的发霉气味是由于由尿、汗等排出苯乙酸，枫糖尿症的枫糖气味是支链α酮酸，异戊酸血症的汗脚气味是由于异戊酸，多种羧化酶缺乏有猫尿气味。

（6）容貌怪异：多见于黏多糖病和神经鞘脂病，可见于过氧化物酶体病。

（7）皮肤和毛发异常：色素减少见于苯酮尿症、白化病、同型胱氨酸尿症等，皮肤黏膜色素加深见于肾上腺脑白质营养不良，脱发见于多种羧化酶缺乏，脆发见于 Menkes 病，皮肤血管角质瘤见于 Fabry 病，皮下结节见于 Farber 病，鱼鳞病见于 Refsum 病。

（8）眼部异常：角膜混浊见于黏多糖病、黏脂病、Fabry 病，白内障见于半乳糖血症、同型胱氨酸尿症、脑腱黄色瘤病、Lowe 综合征，青光眼和晶体半脱位见于同型胱氨酸尿症、Lowe 综合征，眼底黄斑部樱桃红点见于 GM1 和 GM2 神经节苷脂病、尼曼－皮克病等。

（9）耳聋：见于黏多糖病，某些神经鞘磷脂病，Menkes 病，先天性甲状腺功能低下，脑白质营养不良等。

大多数遗传性代谢病缺乏特效治疗，因此预防至关重要。预防措施包括：①在人群中和患者亲属中进行携带者检出，进行遗传学咨询，避免近亲婚配，以减少隐性遗传病的发生；②严重的显性遗传病患者要节育或绝育；③对高危妊娠进行产前诊断，阳性者做选择性人工流产，减少严重遗传性代谢病患儿的出生率。

四、常见遗传性代谢病

1. 苯丙酮尿症

苯丙酮尿症（phenylketouria，PKU）是一种严重氨基酸代谢缺陷病，呈常染色体隐性遗传。国外发病率为 1/（4 500～100 000），我国群体发病率约为 1/16 500。本病以智能发育不全为主要特征，由苯丙氨酸羟化酶遗传性缺乏引起。现已知苯丙氨酸羟化酶基因定位于 12q24.1，基因全长约为 90 kb，含 13 个外显子。该基因在中国人中已发现 10 余种点突变，这是造成酶活性缺乏的原因。

苯丙氨酸经苯丙氨酸羟化酶催化可形成酪氨酸。苯丙氨酸羟化酶缺乏使苯丙氨酸不能转变为酪氨酸，致使苯丙氨酸在体内积累。过量的苯丙氨酸经旁路代谢，产生大量苯丙酮酸及其衍生物苯乳酸、苯乙酸等。这些旁路代谢产物由尿液和汗液排出，使患儿的毛发、皮肤和尿液均有特殊气味。过量的苯丙氨酸抑制酪氨酸脱羧酶活性，影响去甲肾上腺素和肾上腺素合成，也可减少黑色素的合成。旁路代谢的产物可抑制 5－羟色胺脱羧酶活性，使 5－羟色胺生成减少，从而导致脑发育障碍。

典型苯丙酮尿症患儿出生时，外貌正常；至 3～4 个月时，逐渐出现智力和机体发育不全。患儿步伐小，姿似猿猴，肌张力增高，易激动，甚至惊厥。90％以上患者毛发发黄、肤白，甚至虹膜呈黄色（白种人呈蓝色）。出现癫痫、湿疹等症状，尿液、汗液有一种特殊的鼠尿味。

目前采用低苯丙氨酸饮食治疗，最佳治疗时间为出生 2 周内开始。婴儿期食用特制的低苯丙氨酸奶粉，幼儿期添加辅食以淀粉、蔬菜和水果等低苯丙氨酸食物为主。饮食控制至少持续到青春期以后。具体治疗方案因人而异。目前在我国大力推广新生儿苯丙酮尿症的筛查，以期早期诊断、及时治疗，以改善其不良预后。

2. 白化病

白化病（albinism）是一种黑色素代谢紊乱，不能产生黑色素终产物的遗传性疾病。白化病存在遗传异质性，已知白化病至少有7种不同类型。临床上将白化病分为分全身型（眼皮肤白化病Ⅰ型和眼皮肤白化病Ⅱ型）及局部型（眼白化病）三大类。本病发病率为1/（10 000～20 000）。眼皮肤白化病Ⅰ型多为常染色体隐性遗传，其致病基因酪氨酸酶基因（*tyr*）定位于11q14－q21；眼皮肤白化病Ⅱ型是最常见的白化病类型，多数为常染色体隐性遗传，少数为常染色体显性遗传，其致病基因定位于15q11.2－q12，也称P基因；眼白化病主要为X连锁隐性遗传，其致病基因定位于Xq26.3－q27.1。

白化病患者黑色素细胞缺乏酪氨酸酶，不能将酪氨酸最终转变为黑色素，因而表现皮肤白皙、毛发银白或呈淡黄色、虹膜及瞳孔浅红色、畏光、视物模糊、可有眼球震颤。患者日晒后皮肤易灼伤，暴露皮肤易患皮肤癌。

3. 半乳糖血症

半乳糖血症属于糖代谢病。半乳糖代谢涉及半乳糖激酶、半乳糖－1－磷酸尿苷转移酶和半乳糖尿苷二磷酸－4－表异构酶。这三种酶均检出有遗传性缺乏，导致不同亚型半乳糖血症（galactosemia）。该病呈常染色体隐性遗传。

（1）半乳糖血症Ⅰ型：为半乳糖－1－磷酸尿苷转移酶缺乏所致。半乳糖－1－磷酸尿苷转移酶基因定位于9q13，有多种变异型。

由于半乳糖－1－磷酸尿苷转移酶缺乏，致使半乳糖－1－磷酸在肝脏积聚而引起肝大、肝功能受损；在脑组织中积聚引起运动及智力障碍；在肾及肠组织积聚可导致氨基酸吸收障碍；由于血中半乳糖升高可使葡萄糖释出减少，出现低糖血症；晶状体内半乳糖增多，激活醛糖还原酶，产生半乳糖醇，导致白内障。

患儿出生后数日即出现呕吐、腹泻、拒食，随之发生脱水、体重下降、黄疸、肝损害，1～2个月出现白内障。如不及时戒奶，几个月后出现智力障碍，症状进行性加剧。

（2）半乳糖血症Ⅱ型：为半乳糖激酶缺乏。该酶的编码基因定位在17q21－q22。由于半乳糖激酶缺乏，半乳糖不能分解成半乳糖－1－磷酸，血中半乳糖浓度增高，尿中出现半乳糖和半乳糖醇。症状轻，常见白内障（有时可能是唯一的临床表现），无肝、脑损害。

（3）半乳糖血症Ⅲ型：为半乳糖尿苷二磷酸－4－表异构酶缺乏，基因定位于1p36－p35。临床表现变化不一，可无症状或类似于半乳糖血症Ⅰ型。

第二节　分子病

分子病是指蛋白质分子合成异常引起的疾病。蛋白质分子的合成受控于基因，是由DNA分子上的碱基顺序决定的。如果DNA分子的碱基顺序发生改变（基因改变），即遗传信息发生改变，则由它编码的蛋白质就会发生相应的变化，由此引起一系列病理变化，从而发生疾病。这种疾病是由于蛋白质分子的结构和数量的异常所引起的，故称为分子病。这里主要以血红蛋白病为例说明分子病的发病机制及防治。

一、血红蛋白病

（一）血红蛋白病产生的分子基础

血红蛋白由四种珠蛋白肽链组成，它们分别是α、β、δ和γ肽链，由它们不同的组合组成各种血红蛋白。α肽链的基因位于16号染色体，β、δ、γ肽链的基因连锁在11号染色体上。血红蛋白异常导致的分子病就是珠蛋白结构基因的DNA分子结构异常所致。

1. 点突变

DNA分子的碱基转换或颠换造成单个碱基替代，导致三联体遗传密码改变，使得相应表达翻译的肽链中氨基酸发生改变而导致蛋白质结构改变，最终引起该蛋白的生理功能发生改变。例如，β链第6位应是谷氨酸，其对应的碱基密码是GAA，当颠换成GUA时，表达的氨基酸改为缬氨酸；当转换成AAA时，表达的氨基酸改为赖氨酸。在目前发现的血红蛋白异常中，绝大多数属于这两种突变。

2. 终止密码子突变

mRNA翻译蛋白质的终止密码有UAA、UAG、UGA。当终止密码子发生点突变，如UAA转换为CAA时，终止密码翻译为谷胺酰胺，肽链无法终止导致肽链延长。相反，肽链中某一密码子突变而变成终止密码时，肽链就提前终止而变短。例如，在中国人中发现有β珠蛋白基因突变，使转录mRNA密码子17由AAG→UAG，使翻译的β珠蛋白过早终止，造成β链过短，而无正常功能，导致珠蛋白生成障碍性贫血发生。

3. 移码突变

由于DNA分子三联体密码子之间是无间隔的，因此当DNA的碱基序列中插入或缺失一个核苷酸，就相当于多了或少了一个碱基，使得在突变位置以后的三联体密码子均依次发生变化，包括终止密码子。所以移码突变可以使肽链的氨基酸发生改变，也可使肽链长短发生改变。而且这种突变位置越靠近翻译起始端（5′端），其后果越严重。例如，在中国人中发现有β珠蛋白基因转录的密码子41～42产生缺失，造成β链合成提前终止，这种β链不稳定而导致β珠蛋白生成障碍性贫血发生。

突变类型检测可用核酸测序，人工合成寡核苷酸探针作产前诊断。前者多用于研究，后者可应用于临床。现可利用PCR法扩增突变区域，再行测序或杂交分析，大大提高了灵敏度和特异性，可省去目的基因的克隆，方法也得到一定的简化。

4. 密码子缺失和插入

密码子缺失和插入与移码突变不同的是生殖细胞在减数分裂时，染色单体发生错配或不等交换，造成在基因DNA分子中，缺失或插入的核苷酸不是一个而是一部分，即多了或少了一部分密码子。当然其肽链也相应缺失或插入一个以上的氨基酸。例如，珠蛋白生成障碍性贫血发现两种类型：一种为右侧缺失型，缺失了涉及α2和α1基因3.7 kb的片段；另一种为左侧缺失型，缺失了α2及左侧区域4.2 kb的片段（α2基因排列在左，α1基因排列在右）。该类变异可用Southern blot法、RFLP等方法进行诊断。

5. 融合基因

由于减数分裂时不同珠蛋白肽链的基因之间发生不等交换，结果造成某一珠蛋白基因同时融合两种不同珠蛋白基因的部分碱基，由此合成的肽链也含有两种不同珠蛋白的氨基酸序列。

（二）常见血红蛋白病

1. 镰状细胞贫血

镰状细胞贫血（sickle cell anemia）又称为 HbS 病，属异常血红蛋白血症。镰状细胞贫血是因 β 珠蛋白基因点突变引起的一种疾病，呈常染色体隐性遗传。该病是由于 β 链第 6 位谷氨酸被缬氨酸取代，珠蛋白肽链结构异常，使正常血红蛋白（HbA）形成 HbS。HbS 在脱氧情况下聚合形成长棒状聚合物，使红细胞形态异常，由圆盘状变为镰刀形。红细胞镰变引起血黏度增高，容易使微血管栓塞，造成散发性的组织缺氧，甚至坏死，产生肌肉骨骼痛、腹痛等痛性危象。同时镰状细胞变形能力降低，通过狭窄毛细血管时易破裂，导致溶血性贫血。纯合子（Hb^SHb^S）表现为镰形细胞性贫血；杂合子（Hb^AHb^S）大部分无症状，但在低氧分压时引起部分细胞镰变，可有轻度慢性贫血。

2. 血红蛋白 M 病

血红蛋白 M 病又称高铁血红蛋白症，属于异常血红蛋白血症，呈常染色体显性遗传。正常血红蛋白血红素中的铁原子与珠蛋白链上特定的组氨酸连接和作用，保证二价铁离子（Fe^{2+}）的稳定，以维持与氧的亲和力。血红蛋白 M（HbM）患者由于密码子发生碱基置换，使珠蛋白链与铁原子连接或作用的相关氨基酸发生替换，导致部分血红素的 Fe^{2+} 变成 Fe^{3+}，形成高铁血红蛋白，从而丧失与氧的结合能力，使组织细胞供氧不足。患者有发绀症状，并有继发性红细胞增多。杂合子患者 HbM 含量在 30%即可出现症状。

3. 地中海贫血

由于珠蛋白基因缺失或突变导致某种珠蛋白链合成障碍，造成 α 链和 β 链合成失去平衡而导致的溶血性贫血称为地中海贫血（thalassemia）。根据合成障碍的肽链不同可把地中海贫血分为 α 和 β 地中海贫血两类，此外还有少见的 δβ 和 γβ 地中海贫血。

（1）α 地中海贫血（α－thalassemia，简称 α 地贫）：是由于 α 珠蛋白基因的缺失或缺陷使 α 珠蛋白链（简称 α 链）的缺乏而引起的溶血性贫血。根据 α 珠蛋白基因缺失的情况，临床分为不同综合征。

①Hb Bart 胎儿水肿综合征：患者两条 16 号染色体上的 4 个 α 珠蛋白基因全部缺失，为 α^0 珠蛋白生成障碍性贫血基因纯合子（α^0/α^0），完全不能合成 α 链，不能合成正常的胎儿血红蛋白（$\alpha_2\gamma_2$），结果形成 Hb Bart（γ_4）。Hb Bart（γ_4）对氧的亲和力很高，在氧分压低的组织中不易释放氧，造成组织缺氧导致胎儿水肿。Hb Bart 胎儿水肿综合征胎儿多于妊娠 30～40 周死亡或早产，早产儿常在半小时内死亡。

②HbH 病：患者为 α^0 地贫和 α^+ 地贫的杂合子（α^0/α^+），即 4 个 α 珠蛋白基因中有 3 个基因缺失，只有少量 α 链的合成，β 链合成过量，聚合成 HbH（β_4）。HbH 不稳定，容易解聚、沉淀于红细胞膜，使红细胞变形能力下降、脆性增加，容易破坏，导致轻、中度溶血性贫血。

③标准型：患者为 α^0 地贫杂合子（α^0/α^A）或 α^+ 地贫纯合子（α^+/α^+）。即 4 个 α 珠蛋白基因中有 2 个基因缺失。由于能合成相当量的 α 链，所以仅表现轻度溶血性贫血或无症状。

④静止型：患者为 α^+ 地贫的杂合子（α^A/α^+），4 个 α 珠蛋白基因中只有 1 个缺失，临床上无症状。

（2）β 地中海贫血（β－thalassemia，简称 β 地贫）：是由于 β 珠蛋白基因的缺失或缺陷使 β 珠蛋白链（简称 β 链）缺乏而引起的溶血性贫血。根据临床表现，将 β 地贫分为重型、

中间型和轻型。

①重型β地贫：患者基因型为β^0/β^0、β^+/β^+、β^0/β^+，不能合成β链或合成量很少，α链合成过剩。α链沉积于红细胞膜上，改变膜的性能，引起严重溶血性贫血。由于β链不能合成，可出现代偿性合成γ链，出现胎儿血红蛋白升高（$\alpha_2\gamma_2$），患儿出生后几个月便可出现严重的进行性溶血性贫血、肝脾大等。由于骨髓增生、骨质疏松，可出现鼻塌、眼肿、上额前突、头大额隆等特殊的“地中海贫血面容”。

②中间型β地贫：患者通常是某些β珠蛋白生成障碍性贫血变异体的纯合子，β^+（高F）/β^+（高F）；或两种不同变异型珠蛋白生成障碍性贫血的双重杂合子，如$\beta^+/\delta\beta^+$。$\delta\beta^+$为融合基因，患者的症状介于重型和轻型之间，故称中间型β地贫。

③轻型β地贫：患者基因型为β^0/β^A、β^+/β^A杂合子。由于带有正常β^A，患者可以合成一定量的β链，所以临床只有轻度贫血，甚至可代偿性无症状。

β地贫不像α地贫那样存在大片段基因缺失，多数是基因突变引起转录翻译障碍或转录产物加工缺陷所致。

二、血友病

血友病是一组遗传性凝血功能障碍的出血性疾病，属于血浆蛋白病。除Ca^{2+}与凝血活素外，许多凝血因子都有遗传性缺乏的报道。根据患者所缺乏凝血因子的种类，将其分为甲、乙、丙三型以及血管性假性血友病（与凝血因子有关的出血性疾病）。其中以甲型血友病（血友病A）较为多见。我国血友病发病率为2.73/10万（其中男性约为5.21/10万，女性为0.06/10万）。

1. 甲型血友病

甲型血友病又名抗血友病球蛋白（hemophilia A，AHG）缺乏症或第Ⅷ因子缺乏症，遗传方式为X连锁隐性遗传。AHG基因定位于Xq28，有26个外显子和25个内含子，编码2 351个氨基酸。基因突变涉及碱基替换、缺失、插入和移码突变。

甲型血友病的主要临床表现是反复自发性或轻微损伤后出血不止和出血压迫引起的并发证，如可形成血肿、关节变形。死因多为颅内出血。根据凝血因子Ⅷ的促凝活性和症状的严重程度，甲型血友病可分为3型。①重型：患者出生后即发病，有自发性肌肉、关节出血，发作频繁；②中间型：发病年龄较早，出血倾向明显；③轻型：发病年龄较晚，无自发性出血，关节、肌肉出血发作较少。

基因诊断可以明确患者基因突变类型并应用于携带者筛查和产前诊断。

2. 乙型血友病

乙型血友病（hemophilia B）又名血浆凝血活酶成分（PTC）缺乏症或第Ⅸ因子缺乏症。遗传方式为X连锁隐性遗传。PTC基因定位于Xq27，由8个外显子和7个内含子构成，编码415个氨基酸。PTC基因突变也有碱基替换、缺失、插入和移码突变等类型。

此型临床表现类似甲型血友病，但发病率较低，由于杂合子Ⅸ因子活性仅为正常的1/3，某些杂合子可出现症状，故女性患者较甲型多见。

基因诊断可以明确患者基因突变类型并应用于携带者筛查和产前诊断。

3. 丙型血友病

丙型血友病（hemophilia C）又名血浆凝血活酶前质（PTA）缺乏症或第Ⅺ因子缺乏症。遗传方式为常染色体隐性遗传，男、女性均可患病。第Ⅺ因子基因定位在15q11，含15

个外显子，编码 625 个氨基酸。此型症状较甲、乙型轻。

4. 血管性假性血友病

血管性假性血友病（von Willebrand disease）是一种较多见的与第Ⅷ因子有关的遗传性凝血障碍性疾病。遗传方式为常染色体显性遗传或常染色体隐性遗传。基本缺陷是血浆中缺乏一种使正常血小板发生粘连的因子，称为 VWF 因子。基因定位于 12p12，含 52 个外显子，编码2 813个氨基酸。患者有明显的出血倾向，最常见的是反复鼻出血，一般压迫或填塞后可止血。出血现象随年龄增长常常可减轻或缓解。

三、假性肥大型肌营养不良症

假性肥大型肌营养不良症是一种膜蛋白病，包括 Duchenne 型肌营养不良症（Duchenne muscular dystrophy，DMD）和 Becker 型肌营养不良症（Becker muscular dystrophy，BMD）两种类型。现在已证实 DMD 和 BMD 是同一基因发生不同突变的后果。人群中 DMD 患者约 2/3 有家族史，呈 X 连锁隐性遗传；有约 1/3 患者为散发，是由基因新突变造成的。DMD 是一种严重致残致死性 X 连锁隐性遗传病，活产男婴中发病率约为 1/3 500。BMD 发病率约 DMD 的 1/10。

DMD 的致病基因定位于 Xp21，含有 79 个外显子，编码3 685个氨基酸。其临床表现为进行性肌萎缩和进行性肌无力。患者多在 3～5 岁发病，12 岁左右便不能行走，一般在 20 岁前死亡。突出的症状为骨盆带肌无力，走路困难呈鸭步，站立时腰椎过度前凸。患者自卧位起立时表现为 Gower 征。肩胛带肌受累，举臂无力，由于肩胛带肌松弛而形成游离肩；前锯肌和斜方肌萎缩、无力，举臂时两肩胛骨呈翼状竖起于背部，形成翼状肩。90％患者有腓肠肌假性肥大现象和不同程度的心肌损害，约 30％的患者伴有智力障碍。肌纤维萎缩、变性，被脂肪及结缔组织替代，腓肠肌假性肥大。血清磷酸肌酸激酶等活性升高。

BMD 患者病情较轻，临床表现与 DMD 相似，在 5～25 岁发病，病程发展较缓慢，存活期较长，有活至 63 岁者。

目前，多主张对胎儿进行性别鉴定，对男性胎儿进行产前基因诊断。

四、家族性高胆固醇血症

家族性高胆固醇血症（familial hypercholesterolemia，FH）是一种低密度脂蛋白受体（LDLR）缺陷的遗传病。它是一种严重的脂质代谢缺陷病，有单基因和多基因两种遗传方式。FH 的单基因遗传方式为常染色体不完全显性遗传病，基因定位于 19p13。其特征是高胆固醇血症，增高的胆固醇主要为低密度脂蛋白胆固醇（LDL－C）和 β 极低密度脂蛋白（β－LDLC）。增高的胆固醇沉积于血管壁上造成动脉粥样硬化，沉积于皮肤、肌腱等组织形成黄瘤。

临床上分为杂合子和纯合子型。杂合子型发病率为 1/500，纯合子型发病率为 1/10 万。纯合子临床症状重，杂合子临床症状较轻，外显率高（90％～100％）。FH 临床表现为黄瘤、动脉粥样硬化、角膜环。最严重的后果是胆固醇沉积于血管壁造成的动脉粥样硬化，是冠心病重要的危险因素。纯合子患者在幼年即出现黄瘤，杂合子在 20～40 岁才出现。纯合子在 5～30 岁即出现心绞痛和心肌梗塞症状，可骤死；杂合子在 40～60 岁即发生冠心病。角膜环（老年环）是胆固醇沉积于角膜的结果。有时角膜环是本症唯一的早期表现。

五、睾丸女性化综合征

睾丸女性化综合征（testicular ferminization syndrome）又称雄激素全不敏感综合征（complete androgen insensitivity syndrome，CAIS），是一种受体蛋白病，呈X连锁隐性遗传。它是男性假两性畸形的重要病因之一。患者核型为46,XY，有睾丸，能分泌雄激素，但雄激素受体基因发生突变，缺乏有功能的雄激素受体，使雄激素不能发生应有的效应，所以表现女性化特征。

该病临床表现差异极不均一，从外生殖器完全女性化到外表完全为男性（仅有不育或男性乳腺发育）不等。患者腹腔中或腹股沟处，或大阴唇皮下虽有睾丸，但外观为女性，青春期后乳房、外阴均发育良好。常因原发性闭经、不育等求治时发现。查体可见阴蒂肥大、阴道短浅、子宫与卵巢缺如，而有附睾和输精管。随年龄增大，睾丸恶变概率增高。

第三节　性别决定及性别发育中的遗传学问题

性别是一个非常复杂的问题，人们至今并未能完全揭示出有关性别决定的诸多奥秘。世界上第一个提出性别自认概念、第一个创办性别自认门诊、第一个参与性别转换手术的约翰·莫尼（美国）教授曾经说过："性别是一个多变量的、连续的过程。"也就是说，性别的概念包含的内容很多，包括染色体性别（即性染色体是XX或是XY）、性腺性别（即睾丸或卵巢）、激素性别（即雄激素和雌、孕激素）、生殖器性别（即阴茎或阴道及男、女不同的附属性腺）、自认性别（亦即心理性别）、性角色（社会性别）等等。

胚胎向男性或女性方向发育的过程就叫性分化。受精后，新生命的细胞分裂将以极快的速度进行，以制造它的所有器官和组织。精子和卵子各自为新生命提供了一套相同数目的染色体，从而形成含二倍体的新个体。这些染色体将决定新生命头发和眼睛的颜色，身体的大小和许多其他自身的特点。而性染色体的主要功能是决定个体的遗传性别（XX或XY），然后以很快的速度向不断增殖的所有细胞传递，特别是要传递到一组由性染色体支配的特殊细胞群，这些细胞群将发展为睾丸（XY）或卵巢（XX）。

为了保证婴儿的性器官与其性别相匹配，女性或男性激素开始产生。胚胎自我制造的激素确保了表明男性或女性的特殊器官能够正常发育。女性雌激素的产生可以确保女婴出生时具有完全的女性性器官。此外，女婴的宫内发育受母亲自己血液的支持，这些血液中含有来自母亲卵巢的激素。所有产生的雌激素保证了女性性器官复合体的形成，如子宫、输卵管、卵巢、阴道、阴蒂和阴唇。这些器官在青春期之前将保持幼稚状态，当青春期雌激素大量产生时将使女孩发育成成熟女性。

当精子携带的性染色体是Y时，一个由XY信息指导的一些细胞则发育为睾丸。它们在子宫内便开始分泌男性激素睾酮并带来男性生殖器官——阴茎、阴囊、前列腺、精囊等的发育。在青春期之前它们同样保持幼稚状态，在青春期的迅速成熟确保男孩转变为成年男性，就像女孩初潮是生育能力的信号一样，男孩第一次射精将宣布他具有使女性受孕的能力。人类所有器官系统中，只有生殖系统是在出生后十几年才开始发挥其功能的，而其他所有系统都是从一出生就开始工作了。

性发育是一个复杂的过程，并且在性分化与性成熟过程中具有一定的可变性。因此，有可能发生性分化异常。

前面已经知道，染色体决定人的性别，染色体核型是46,XX，是女性；核型是46,XY，则是男性。由染色体决定的性别称为染色体性别。此外，还有性腺性别，即男性性腺为睾丸，女性性腺为卵巢。再有就是生殖器性别。婴儿出生时医生总要把婴儿的外生殖器显示给母亲看，让母亲知道她生的是男孩还是女孩。这个孩子按照他（她）出生时根据外生殖器确定的性别在社会中生活下去构成了其社会性别。如果这几种性别是一致的，这就是性分化正常的人；如果这几种性别之间发生矛盾，这就是性分化异常。发生性分化异常的主要原因之一是染色体异常。

性染色体XX和性染色体XY所以能够决定性别，是由于Y染色体上存在有控制性别的基因。无论是男孩还是女孩，在他们的胚胎早期都不能辨认出来。早期胚胎既不是女性，也不是男性，而是中性。胚胎内存在两种性腺，一种是外层组织即皮质，另一种是间质组织即髓质。此外胚胎内还存在两套导管，即苗勒管和午非管。在正常性分化过程中，这两种性腺只有一种发育正常，继续存留，而另一种则逐渐退化而消失。如果这个胚胎存在两条XX染色体，胚胎中性腺皮质部分就发展起来而形成一个卵巢，苗勒管变成女性的输卵管、子宫和阴道的上端，而髓质部分就逐渐退化消失，胚胎最后发育为女性。待青春期就有月经、乳房发育、外阴、子宫、输卵管等女性特征。如果这个胚胎有一条Y染色体和一条X染色体，性腺的皮质部分就停止发育，而髓质部分发展起来而形成睾丸，午非管最后形成尿道、阴茎、阴囊，发育成一个男性。待青春期可出现喉结、长胡须、精子形成等男性特征。如果性染色体的功能出现障碍，就不能形成一个完整的性腺，因而导致性畸形的发生，如“中性人”、“阴阳人”等。

性分化异常往往是原发闭经、不孕的重要原因。前面已介绍的Turner综合征、真或假两性畸形就是典型的性分化异常的病例。Turner综合征的患者尽管有染色体异常，但外生殖器正常，社会性别是女性。在没有染色体或性腺异常的患者也有外生殖器紊乱的情况下，这就是两性畸形中的假两性畸形。假两性畸形分为男性假两性畸形和女性假两性畸形。女性假两性畸形主要是由于先天性肾上腺皮质增生或后天性肾上腺皮质肿瘤等原因引起的。常见的是先天性遗传性类固醇代谢失常，即缺少某种类固醇生物合成的酶，导致肾上腺皮质激素合成障碍而使雄激素合成过多。胎儿时期如果体内雄激素过多，则会出现外阴男性化，并且子宫、输卵管、阴道均呈幼稚型。卵巢在过多的雄激素作用下，滤泡发育不良，青春期无月经来潮，表现为原发性闭经。这些患者由于外生殖器男性化、多毛、痤疮及声音低沉等，往往到泌尿科就诊。其染色体检查为46,XX，即染色体性别为女性。肾上腺皮质增生患者经过肾上腺皮质激素治疗，体内雄激素水平下降，卵巢功能逐渐恢复，出现月经和排卵。异常的生殖器还可做整形手术。国内曾报道有一名患者经治疗后生出一个正常男婴。

思考题

1. 何为遗传性代谢病？遗传性代谢病有哪些特点？
2. 简述分子病的概念。
3. 性别是怎样决定的？

（丁显平　李科生　魏　霞）

第八章 人体性状和行为的遗传

大约在30多年前，有一位名叫爱德华·威尔逊的美国生物学家出版了一本名叫《社会生物学》的著作，在书的最后一章讨论了遗传因素对人行为的影响。这在当时的学术界属于离经叛道的观点，掀起了轩然大波，威尔逊本人也被扣上了遗传决定论者、种族主义者、性歧视主义者等种种帽子。这30年来，遗传学、分子生物学和神经生物学的研究积累的越来越多的证据表明，遗传的确影响了人的行为和性格，形成了一门新的学科“行为遗传学”。我们经常看到有关发现基因与同性恋、酗酒、冒险行为、智力、忧郁症等有关的报道。例如，最近美国全国精神病研究所的研究人员报道说，一种名为 *SLC6A4* 的基因可能会影响人们的情绪。该基因有长、短之分，携带短基因的人更容易产生焦虑。这提示了性状和行为是可以遗传的。

第一节 体表性状的遗传

遗传是生物界存在的普遍现象，一切生物在繁衍后代中都是按照自己的模式产生后代的，每一物种的个体都继承着亲代的各种基本特征。遗传是实现人类和各种生物在世代间得以种族延续的基本条件，是决定人体健康发展与变化的先天性因素。人体正常性状的遗传包括性别、体表性状、生理生化特征、身体素质等方面的20多种性状的遗传。

一、遗传因素对体表性状的影响

遗传因素对人体体表性状有重要影响。

1. 身高的遗传

身高属于多基因遗传，有数量性状遗传的特点，有多少对基因决定身高，具体基因目前还不肯定。在国外，有人测量了10 004人，把身高分为8个等级，只发现了1个高峰。近几年的研究发现，人的身高似乎表现为显性遗传，双生子身高无明显差异。在良好生活环境影响下，人的身高在很大程度上取决于遗传。有研究表明，遗传因素占75%～80%。以父母身高预测子女身高的近似公式如下：男性成人时身高＝（父身高＋母身高）×1.08/2；女性成人时身高＝（父身高×0.923＋母身高）/2。使用上述公式时应注意性成熟早晚、女性月经初潮的年龄、计算身高时的骨龄等影响因素。

2. 体型的遗传

体型、躯干和四肢的长度比例主要受种族遗传的影响。人的体型大致可分为三种类型：

（1）瘦长型（无力型）：身体高而细瘦，肩狭而垂。

（2）健壮型（正力型）：身体匀称，肩宽而方，肌肉发达，四肢健美，大手、脚。

（3）矮胖型（超力型）：个子矮，胖，颈粗短，桶状胸，腹部凸出。

研究表明，体型、躯干和四肢的长度比例主要受种族遗传的影响。有资料表明，父母均为瘦长型，则子女身体肥胖的概率为7%；若父母肥胖，其子女肥胖的概率约为一般孩子的10倍。大量研究表明，不同种族在身高、坐高、坐高/身高、骨龄、齿龄等方面存在统计学差异。在相同生活条件下成长的非洲裔和欧洲裔的美国儿童，其成年身高的平均值无明显差异，但非洲裔儿童的腿长超过欧洲裔儿童；在相同生活条件下成长的日本儿童与美国白种人孩子比较，前者的腿长低于后者。黑种人儿童的恒牙萌出时间平均比白种人早一年。亚洲各国（中国、日本、朝鲜）儿童的共同特点是，自婴幼儿开始骨龄一直落后于非洲裔和欧洲裔的美国儿童，但在青春期骨骼的干骺愈合速度又显著超过非洲裔和欧洲裔的美国儿童。这种青春期骨龄成熟加快现象，被认为是亚洲儿童成年身高低于白种人的主要原因。

3. 肤色遗传

肤色的遗传是多基因遗传。人的肤色基本上有三大类——白色、黄色和黑色，一般认为由两对或三对基因控制。黑种人与白种人结婚，子一代是混血儿，其肤色介于两者之间，为灰黑色；如果两个黑白混血儿婚配，子代肤色可能有纯白色或纯黑色，或者从黑到白的中间类型，符合多基因遗传特点。当然如果白种人与白种人、黑种人与黑种人结婚，其子代也有超亲现象。不同种族肤色不同，主要是产生黑色素的量不同，而黄种人还会产生黄色素予以补充。白化病也能引起皮肤发白，是一种隐性遗传病。人类肤色的遗传与动物的毛色遗传不同，控制人类肤色的基因不存在显性和隐性的区别，而动物毛皮颜色控制基因是共显性的，表现的毛色性状是镶嵌型的。

4. 眼睛的遗传

（1）眼形：眼睛的形状和眼窝的形状与眼皮生长的方式有关系，而眼窝的形状和眼皮的生长方式都是由遗传决定的。眼睛的形状既有种族的特征，也有种族的变异。因此在整个人类群体中，眼睛有各种形状。正常情况下，水平对斜眼（内角圆、外角尖而且稍高）是显性的；蒙古人的眼由于一个皮肤皱褶盖在眼的内角，造成了斜的外形，对欧洲人眼是显性的；长睫毛对短睫毛是显性的。

（2）眼睑：即眼皮，有单层和双层之分，依人种不同而有变异。蒙古人多是单眼皮，白种人多是双眼皮，中国人两种眼皮均有。日本的研究资料表明，单、双眼皮的出现率随人的年龄而变化。5岁时，人群中双眼皮者约占20%，45岁时约占80%。双眼皮对单眼皮来说是显性的。

在人群中，还有一种人的上眼皮终身都在不停地生长，隔一段时间，它就把眼球遮住了，必须动手术将其割去。临床上把它叫做上睑下垂症。它是由显性基因控制的遗传性异常，只要有一个基因存在，携带者就出现上睑下垂。

（3）眼色：人的眼色是光线在眼球的不同物质上反射的结果。人的眼色有黄色、褐色、灰色、黑色、蓝色及青色等。从黄色到黑色之间出现不同程度的变异。黑眼对其他眼是显性的，褐眼、灰眼、绿眼对蓝眼也是显性的。据国外资料，蓝眼同蓝眼人结婚所生孩子中，男孩多蓝眼，女孩多褐眼，似乎与性激素有关。在眼的色素形成过程中，有些学者认为有多个基因参与，但其中只有一个主要基因起决定作用。白子眼全无黑色素，是由于某个基因发生了突变，这个基因正常作用受到了阻碍。在眼色方面还有一种特殊性状，即有的人左右眼色不一，常见的是一蓝一褐。这是因为从亲代得到褐色基因和蓝色基因形成的嵌合体的结果；

或是发育早期的原始细胞中，某一基因发生突变造成的。

（4）近视：尽管视力很容易受后天环境因素的影响，如知识分子中近视较多，这与知识分子用眼过度是分不开的。但有资料表明，近视的发生率有一定的家族倾向，黄种人的近视率高于白种人和黑种人。尤其是高度近视表现出极明显的家族倾向性。有些学者认为，高度近视是一种常染色体隐性遗传；也有人认为，高度近视是一种多基因遗传，其遗传率高达80%以上。中等近视虽与遗传有关，但后天因素影响较为重要。另外有人发现，近视者中男性多于女性，看来近视也与性别有一定关系。

（5）红绿色盲：是典型的X连锁隐性遗传病，男性多于女性，二者之比为（11～20）∶1。当一个男性含有一个红绿色盲基因时，就是红绿色盲；对女性来说，只有男性红绿色盲与女性携带者婚配后，所生女儿才可能是红绿色盲患者。红绿色盲患者还与人种有关，以男性为例，白种人为8%、黄种人（中国）为51%、黑种人为1%～3%。

5. 毛发的遗传

头发的颜色和式样，在不同的群体中也有不同，同样受基因和环境共同影响。

（1）发色：头发的颜色取决于发细胞中黑色素的多少，黑色素很多则是黑色，依次递减为褐色到金色。另外，发色的构造及发中所含空气量等也有关系。黑色头发对浅色头发是显性的，是单基因决定的。红发是由于一个补充基因控制产生分散的红色素，它能与黑色素基因同时存在于一个个体内。如果黑色素基因的活动性较强，红色素基因的效应就被其掩盖，发色就成黑色或褐色。如果黑色素基因的活动性较弱，则成褐色或栗色。如果黑色素基因不活动或不存在，则出现红头发，所以红发是隐性遗传的。

白发形成的原因有多种，或由于遗传色素基因的活动能力极弱，产生的黑色素极少；或有抑制基因的存在，也不能很好地合成黑色素。此外白发形成还与人的年龄、疾病及精神状态等后天因素有关。例如，白毛女由于悲愤和艰苦头发变成了白色。有人认为，这是由于神经因素影响到色素形成的过程，也有人归因于发杆中气泡的形成。

（2）发式：发式是由毛囊着生的方式决定的，而毛囊的形成方式是受基因控制的。毛发从毛囊向上生长，加上微小的结构差异和环境因素的影响，造成了发式的区别。现在已经清楚地知道了控制发式基因的活动规律。羊毛发式基因的作用最强，它对其他一切发式基因都是显性的；扭结发式基因对卷曲发式基因是显性的；卷曲发式基因对波浪发式基因是显性的；波浪发式基因对直发式基因是显性的。但在东方人中，直发是显性的。还有一个特殊的基因决定发的硬度，在中国人中硬发是显性的。另外，决定发旋方向的基因，顺时针对逆时针是显性的。

6. 鼻的遗传

（1）形态遗传：鼻子形态特征的遗传方式，多数学者认为是由3～4对基因控制的。鼻梁、鼻孔、鼻根都分别由一对基因决定，其中弓形鼻梁对直鼻梁为显性。鼻子作为一个完整的单位好像是从双亲的一方遗传来的，有关的基因联合在一起传递给下一代，而且一个亲本的所有关于鼻子的基因对于另一亲方来说，都是显性的。

（2）功能遗传：鼻的功能之一是嗅觉。人的嗅觉也有明显的个体差异，但嗅觉功能的遗传规律目前还不清楚，尚有待进一步研究。萎缩性鼻炎患者嗅觉逐渐丧失，这是一种多基因遗传病。

7. 手的遗传

手是人类在长期的劳动过程中进化而成的，是区别于其他哺乳动物的显著标志之一。手

的形成既与遗传因素有关，又与环境因素紧密相关。例如，印度狼孩、豹孩离开人的生活环境，与兽生活在一起，结果手失去抓握东西的能力，变成了前肢，手成了类似于动物的前足。

（1）惯用手：有的人惯用右手（右利手）；而有的人惯用左手，称为左撇子（左利手）。它是由单基因决定的，惯用右手对惯用左手是显性的。但也与后天的训练有关。若双亲之一为左利手，孩子惯用左手的概率为17%；若双亲均惯用左手，孩子惯用左手的概率为50%；双亲都惯用右手的，孩子惯用左手的概率仅为6%。

（2）多指：单手五指以上是畸形，称为多指症。它是由一个显性基因控制的，这一基因导致胚胎发育时期手的胚芽数目增多，因而出现多指。多指性状属于不规则显性（指在某些遗传背景和某些环境因素影响下，杂合子 Aa 表现显性；在另一些情况下，则表现为隐性）。

8. 其他

许多形态和功能也受遗传因素的影响。先天性耳聋可由单基因突变引起，能致聋的基因有几十对，其中多为隐性。这些基因中任何一对的纯合状态均可引起耳聋。因此，一对聋哑的夫妇也可能生出不聋不哑的孩子。舌的形态和舌的味觉功能的个体差异也与遗传有关，有的人不能尝出苦味，这与存在有一对隐性基因有关，这种人叫味盲。在我国味盲者占10%。皮纹的特点，特别是掌纹和指纹都受遗传因素的影响，如21三体综合征的孩子通常可以见到通贯掌。

二、生理生化指标的遗传

前苏联生理学家巴甫洛夫将人的神经类型划分为四类：①活泼型（灵活型），其基本特征是反应快、准确、活泼好动、思维敏捷、接受能力强、富于创造性，具有强而稳定的工作能力；②安静型（随性型），其基本特征是反应较慢、准确、沉着谨慎、踏实肯钻研，但灵活性差；③兴奋型（不可抑制型），其基本特征是反应快、准确性差、对新事物敏感、好动、不易控制自己、有较强的工作能力；④弱型（抑制型），其基本特征是反应慢、注意分散、粗心、工作能力较低。人的神经类型取决于两个因素：一个是遗传因素，它决定了大脑皮质神经元的分子结构不同；另一个是环境因素，即个体在不同环境中受到的影响有差异。总的来说，遗传因素的作用大于环境因素的作用。大量研究表明，高级神经活动类型由多基因决定，其遗传率可高达90%，环境因素只占10%左右。

关于遗传因素对心肺功能的影响，有资料表明心率和血压均为多基因遗传，各基因之间有累积效应。心率的遗传率可达85%左右。最大吸氧量也为多基因遗传，有学者报导其遗传率为93%左右。

人的青春期是人体生长发育速度较快的阶段。这一阶段的发育速度存在着明显的个体差异。少年的青春发育可分为提早发育、正常发育和推迟发育三型。每型又可按生长发育高潮时间持续的长、短和正常而分为三类。生长发育高潮开始时间的遗传率为75%；生长发育高潮期持续时间的遗传率为63%。女性月经初潮时间的遗传率为90%。由此可见，人的生长发育主要受遗传的控制。

人体骨骼肌肌纤维的数量和分类比例与遗传密切相关。经研究，骨骼肌肌纤维的数量和分类比例的遗传率为99%。人体血红蛋白含量受单基因控制，基本上受遗传因素影响。人体肌红蛋白的含量、合成潜力以及可能达到的最高值也主要受遗传因素的控制，遗传率为73%。

人体的血液中乳酸和乳酸脱氧酶的含量与人的无氧耐力密切相关。安静状态下血液中乳酸含量的高低主要受遗传因素的影响，其遗传率为70%。乳酸脱氨酶（LDH）的含量直接关系到乳酸的代谢，它能将血液中乳酸迅速、有效地转化，以防止肌肉工作效率的降低。经研究证明，乳酸脱氨酶活性的遗传率为72%。

第二节 血型的遗传

自从1900年奥地利学者Landsteiner发现血型以来，人们对“血型”的认为是人体的一种遗传性状。随着医学科学的发展，这一概念已不能完善地表明血型的含义了。因为现今的血型抗原，不仅局限于红细胞的血型抗原系统，而且广泛涉及人体的各个部分，即人体各种细胞（血细胞、组织细胞）和各种体液成分的抗原抗体系统所表现出来的遗传多态性。以下主要介绍血型抗原的遗传。

人类血型抗原的组合数到底有多少，这是无法估计的。有文献报告，其远远超过了地球上的人类数。所以，世界上要想找到两个血型完全相同的人，是根本不可能的。就红细胞血型抗原而言，迄今为止，共发现了23个红细胞抗原系统，400多个血型抗原。

一、ABO血型系统

ABO血型系统只是最基本并与临床应用关系最密切和最重要的血型系统，也是目前已知正常人血清中唯一存在天然抗体的血型系统。除红细胞外，其他组织细胞中（如淋巴细胞、上皮细胞等）存在ABO血型系统抗原。ABO血型由一组复等位基因（multiple alleles）所决定。所谓复等位基因是指在一个群体中，某一特定的基因座位上的等位基因种类有三种或三种以上，但具体到特定的某个个体则仅含有其中的一种（纯合子）或两种（杂合子）。复等位基因是由于一个基因发生多种变化，从而产生多种基因型的结果。ABO血型的基因是由I^A、I^B和i三种基因组成的复等位基因。基因型I^AI^A和I^Ai都决定红细胞膜上抗原A的产生，使这种个体为A型血；基因型I^BI^B和I^Bi都决定红细胞膜上抗原B的产生，这种个体为B型血；基因型ii则决定H物质的产生而不产生抗原A和抗原B，这种个体为O型血；杂合子I^AI^B决定红细胞膜上既产生抗原A又产生抗原B，这种个体为AB型血，这是两个等位基因共显性的结果。因此，基因I^A对基因i为显性，基因I^B对基因i也是显性。如果两个AB血型（I^AI^B）的个体结婚，后代可能产生A型血（I^AI^A）、AB型血（I^AI^B）或B型血（I^BI^B）。

根据孟德尔分离律的原理，已知双亲血型，就可以估计出子女中可能出现的血型和不可能出现的血型（见表8-1）。

二、Rh血型系统

Rh阳性者红细胞表面含有Rh抗原，Rh阴性者红细胞表面不含Rh抗原。Rh阴性个体经Rh阳性红细胞致敏后可产生抗体。我国人群中Rh血型阳性者占99%，Rh阴性仅占1%左右。

表 8—1　双亲和子女之间血型遗传的关系

双　亲		子女中可能出现的血型	子女中不可能出现的血型
血型	产生配子基因型		
A×A	$I^A/i \times I^A/i$	A，O	B，AB
A×O	$I^A/i \times i$	A，O	B，AB
A×B	$I^A/i \times I^B/i$	A，B，AB，O	—
A×AB	$I^A/i \times I^A/I^B$	A，B，AB	O
B×B	$I^B/i \times I^B/i$	B，O	A，AB
B×O	$I^B/i \times i$	B，O	A，AB
B×AB	$I^B/i \times I^A/I^B$	A，B，AB	O
AB×O	$I^A/I^B \times i$	A，B	AB，O
AB×AB	$I^A/I^B \times I^A/I^B$	A，B，AB	O
O×O	i×i	O	A，B，AB

孕妇和胎儿之间的血型不合可引起胎儿在子宫内发生溶血、贫血甚至造成胎儿死亡。Rh 血型不合而起的胎儿溶血极为少见，大多数为 ABO 血型不合。Rh 血型不合发生于母亲为 Rh 阴性，父亲为 Rh 阳性，胎儿为 Rh 阳性者。通过流产、分娩，胎儿红细胞进入母体，刺激母体产生抗 Rh 抗体。ABO 血型不合，多见于母亲为 O 型，胎儿为 A 型、B 型或 AB 型。例如，胎儿为 A 型，当红细胞通过胎盘进入 O 型血的母体后，因两者血型不同，O 型母亲就产生抵抗 A 型红细胞的抗体，这种抗体与 A 型细胞结合，就会使红细胞破坏而发生溶血。由于抗体量的多少不同，症状可以有轻重差异。轻者出生后与新生儿生理性黄疸相似，重者则因为红细胞破坏后大量胆红素不能被胎儿肝脏处理，经血脑屏障渗入脑细胞引起中毒性脑改变，称为核黄疸。核黄疸死亡率极高，幸存者也会影响胎儿发育，造成智力低下和运动障碍。Rh 血型不合引起的胎儿严重溶血可造成宫内死胎或死产；ABO 血型不合，引起的胎儿溶血程度较轻，一般很少引起宫内死胎，常以新生儿早期黄疸而造成危险。

对于曾发生过胎儿 ABO 血型溶血者，或原因不明的脑损害者，以及有习惯性流产史的孕妇，均应定期监测抗体效价，并及时采用中药等综合治疗。

近年来发现，存在于红细胞上的凝集原（即血型抗原）也存在于其他血细胞和一般组织细胞。所有细胞表面血型抗原的特异性可作为机体免疫系统鉴别“自身”和“异物”的标志。因此，在临床实践中血型鉴定也是组织器官移植成败的关键。由于人类血型有遗传特性，决定 ABO 血型的血型抗原即凝集原 A 和 B 及其前身物 H，分别受 I^A、I^B 和 i 三个等位基因控制。I^A、I^B 基因为显性基因，i（H）基因为隐性基因。它们的遗传规律所显示的父、母血型与子代血型间的关系，在法医学上可作为否定亲子关系的依据，若再配合其他血型系统的测定，则可判断亲子关系。

第三节　身体素质的遗传

身体素质的遗传问题已引起许多遗传学家们的注意。作为身体素质的重要组成部分，行

为和智力的研究是一个极为复杂的课题，而且二者密切相关。行为通常分为本能行为与非本能行为两种，本能行为生而有之，包括觅食、求偶；非本能行为则是指后天形成的一些行为，如学习行为、品德行为、社会活动行为等，这些行为往往也认为是智力的具体表现。因此，有学者认为智力是行为的一个重要内容。

一、行为的遗传

科学家们发现，父母子女之间、孪生兄弟姐妹之间，不仅在外貌形态、生理心理上惟妙惟肖，在动作姿态、寿命长短、对相同刺激作出同样或类似反应等行为方面，也十分相似。对许多优秀家系和双生儿的研究，也说明人的行为是有遗传基础的。

双生儿研究的创始人是高尔顿。他认为研究双生儿特别是一卵性双生儿，对探讨遗传因素和环境条件在人的性格和智力形成中的作用，具有十分重要的价值。他曾向有双生儿的家庭发出了调查书，收到了 94 份答卷，非常相似的双生儿约有 80 对。在有详细描述的 35 对中，大部分双生儿的头发和眼睛的颜色几乎是一样的，身长、体重、体力、态度、姿势、性格爱好，连言语的抑扬顿挫也非常相似。有的双生儿甚至患一样的疾病，如疝气、齿痛、秃顶和肾病等。高尔顿经过调查研究后认为，在人的性格和智力的形成中，遗传因素的作用远远超过后天环境因素的影响。

近年来的研究表明，在一卵性双生儿中，同时出现晕车、晕船、便秘、梦游、吮指、咬指甲、夜尿和睡觉咬牙的占很高的比例，从而说明这些行为是受遗传控制的。

1983 年夏天在伦敦召开的第四次国际双生儿学术会议上，英国学者派克指出，一卵性双生儿患依赖胰岛素型糖尿病的一致率为 53%，患非依赖胰岛素型糖尿病的一致率为 85%。过去认为非依赖胰岛素型糖尿病是由引起肥胖的环境因素造成的，根据派克的研究则证明起重要作用的应该是遗传因素。丹麦学者贝特尔森报告，一卵性双生儿患躁郁症（一种异常兴奋和异常忧郁交替出现的精神病）的一致率为 62%，而二卵性双生儿的一致率为 18%，遗传倾向十分明显。

通过家系调查，也可以看出遗传的存在。据记载，贝尔努利家系、达尔文家系、巴哈家系都产生过许多闻名遐迩的大学者、音乐家。就拿达尔文家系来说，其中不仅有杰出的生物学家查理士·达尔文和优生学家弗朗西斯·高尔顿，还有进化论的先驱、博物学家、生理学家、诗人伊拉兹马斯，数理天文学家乔治，植物生理学家弗朗西斯及市长、工学家霍累斯等。另有报道，两百多年前，美国纽约有一个叫马克斯·朱克的酒鬼、赌徒。在他的子孙中，有 300 多人成了乞丐和流浪者，因生活无着而死于路旁，7 人因杀人被判死刑，163 人因偷盗、诈骗等被判刑，因喝酒夭亡或成为残废者达 400 余人，有 50 多人住济贫院，好歹能过上一般生活的仅 20 人。前者是人才辈出的盛况，后者是穷途末路的惨景。两者惊人的差异反映出：人的行为与遗传的关系十分密切。

然而，有些科学家却非常强调后天环境对人的行为的影响。美国行为主义心理学家华生曾公开说："若给我一打健全的儿童，我可以用特殊的方法任意地加以改变，或者使他们成为医生、律师……或者使他们成为乞丐、盗贼……"对这种说法未免过分夸大后天环境的作用。但确有一些事实表明，后天环境对行为的重要作用。据记载，古埃及有个皇帝，野蛮地将两个新生婴儿藏于地下室内，只给他们送食物吃，禁止任何人与他们接触。结果两个孩子长到十一二岁，除了发出单调的怪叫，什么话也不会说。

可见，一个人行为的形成与内、外的环境都是有密切关系的，是遗传因素与环境因素共

同作用的结果。

行为的遗传仍然可以分为单基因遗传、多基因遗传和染色体遗传。

1. 单基因遗传

目前，关于人类的哪些行为受单基因控制还不是十分清楚，但通过对单基因行为异常的研究可以帮助理解单基因控制的正常或异常行为的遗传特点。例如，有一种自残行为的人常咬掉自己的手指，检查发现这种人血液中尿酸含量明显超过正常水平。美国和德国的相关研究表明，自残行为者体内缺少次黄嘌呤和鸟嘌呤核苷酸磷酸转移酶（HGPRJ）。这种酶由一个基因决定，说明这种行为与单基因遗传有关。

2. 多基因遗传

有关多基因控制的人的行为报道较少。但从理论上讲，凡是受遗传、环境双重因素影响的行为均属多基因行为。因此，学习、品德、智力均属于多基因行为。

一个人在年轻时如果没有好的学习条件，对以后的智力、行为影响是很大的。实践表明，对幼儿行为影响最大的是家庭成员，对少儿行为影响最大的是学校和社会。

3. 染色体遗传

染色体的变化引起行为的异常是很明显的。染色体病患者大都有智力低下、行为异常、发育迟缓等特点。例如，Turner 综合征患者，核型为 45,X，这种人空间感觉力差。又如，核型为 47,XYY 的人部分有性情粗暴、易冲动、有反社会行为等。

二、智力的遗传

智力是指人认识、理解客观事物并运用知识经验等解决问题的能力。它包括记忆、观察、想象、理想、分析、判断、应用与创新等多种互相联系的因素构成的一个综合能力。人的智力较其他动物高，是因为人有较强的记忆力（即较强的信息贮存能力）和较高的思维能力（即有较高的能力来识别各种信息间的联系）。因此，人对未来有比较准确的预见性。不同个体之间的智力差异，主要与遗传决定的脑的微细结构的不同有关，也与不同环境中的功能训练有关。

自古以来，出现了许多高智力结构的家族。如音乐家巴赫家族的 8 代 136 人中，有 50 人是著名的音乐家；莫扎特和韦伯家族的几代人中都有著名的音乐家；我国南北朝时著名的科学家祖冲之的儿子祖恒之、孙子祖皓都是机械发明家，又都是著名的天文学家和数学家。智力的这种家族聚集性，一度被认为遗传决定智力的例证。然而，家庭也是智力发展最基本的环境因素，家庭提供了定向教育培养的优势条件。智力的家族聚集性现象，恰恰说明了先天和后天因素对智力发育的作用。这些事实充分表明，智力虽不是完全由遗传所决定的，但是与遗传有一定的关系。遗传对智力发育的作用是客观存在的。

目前普遍使用的智力测量标准是“智商”（Intelligence Quotient，IQ）。智商为 200 分制，即最高分数是 200，最低分数是 0。90～110 分者属于正常智力的范围；120～140 分者为聪明人，140 分以上者则是绝顶聪明的人或称天才；分数越低，表示智力越差，70 分以下的为智力低下，其中 50～70 分者属于愚笨，25～50 分者为痴呆，0～25 分者为白痴。较高智商父母的子女往往比较聪明，反之亦然。

1900 年法国学者 Binet 首创智商检测法。他制定了白领 IQ 表及蓝领 IQ 表，分别用于白领阶层与蓝领阶层。西方国家白领阶层指受教育程度和社会地位较高者，蓝领阶层指文化程度和社会地位较低者。通过 IQ 表对个体测试后，再用公式 IQ=智龄/实龄×100 计算 IQ 值。

据统计，父母的智商高，孩子的智商往往也高；父母智商平常，孩子智商也一般；父母智力有缺陷，孩子有可能智力发育不全。有人长期研究过一群智商在140分以上的孩子，发现这些孩子长大后一直保持优秀的才智。他们子女的智商平均为128分，也远远超过一般孩子的水平。而对于精神缺陷者，他们的孩子有59%精神缺陷或智力迟钝。

但是，智力的实际表现还要受到主观努力和社会环境的很大影响，后天的教育、训练以及营养等因素起到相当大的作用。没有这一条，再好的遗传基础也不行。可以设想，即使是具有特殊智商的“神童”，如果一出生就落入狼穴，也只能长成“狼孩”。

由此可见，遗传提供了智力的基本素质，后天因素则影响其发展的可能性。因此，要想使后代智力超群，就必须在优生和优育上一起下工夫，使孩子的智力得到最充分的发挥。

双生儿法是研究智力遗传的经典方法。一卵双生用MZ表示，因为遗传基础完全相同，其智力水平的差异是环境引起的；二卵双生用DZ表示，其遗传基础有差异，故其智力水平的差异，既有遗传基础的作用，也有环境因素的影响。将在一起成长的一卵双生儿与二卵双生儿的智力水平差异进行对比，可以计算出智力的遗传率。孩子与养父和生父之间的IQ相关，以及孩子与养母和生母之间的IQ相关各有不同。孩子与亲生父母之间的IQ相关系数（RPC）约为0.35，不论是自家养育或送他人寄养，相关系数不变；孩子与养父母之间的IQ相关系数很低，仅为0.05左右，这说明遗传基础在决定IQ水平上有重要作用。

三、寿命的遗传

人类学家鲍戈莫洛兹曾转述过一个故事：一位过路人看到一位80岁左右的老人在门口哭泣，觉得很奇怪，就问他为什么要哭。老人说他挨了父亲的打。过路人于是去看这位老人的父亲，这是一位113岁的强健老人，老人说他儿子不尊敬祖父，走过他面前没有鞠躬，所以发怒。过路人更为惊异，又要求去见见祖父，祖父整整143岁了。这可真是一个“长寿之家”。这样的家庭还可以举出不少。显然，长寿有家族集聚的倾向性。遗传学家认为，寿命是与遗传有关的。最有说服力的是对双生子（同卵双生）的调查。有人统计60～75岁死去的双胞胎，男性双胞胎死亡的时间平均相差4年，女性双胞胎死亡的时间相差仅2年；而普通同胞因年老而死亡者平均相差9年之多。有1例有趣的报道，同卵双胞胎姐妹，一个嫁与大农场主为妻，生有众多孩子，另一个当裁缝勉强糊口，孑然一身。可是，姐妹俩相继在26天内同死于脑卒中。这说明寿命与遗传确实是有关系的。

寿命的长短变化很大，呈正态分布，很可能是多基因决定的。当今许多学者一直在研究、探索决定寿命的遗传基础。通过动物实验提出蠕虫染色体上存在一个决定寿命的基因，命名为长寿1号基因，该基因能使蠕虫的平均寿命延长70%。长寿1号基因在年轻细胞中比在衰老的细胞中活跃，它还能使酵母的寿命延长1/3。后来有人发现，人体某些细胞里也有类似长寿1号基因的表达。

当然，寿命受环境因素的影响也很大，特别是人类的经济文化生活和社会政治生活。寿命是人口质量的主要方面，延年益寿是人们的共同愿望。按照科学家的推算，人的寿命应该在150岁以上，事实上现在人类的平均寿命确实在不断延长。我国人口的平均寿命也正在逐渐跻入世界的长寿队伍之中。有学者认为，按照生命的发生和发育规律，高等哺乳动物的寿命应为成长期的5～7倍，而一个人的成长期为20～25年。因此，人的正常寿命应为100～175岁。但根据世界各地的资料统计，这个推论目前很难达到。

学者们将延长寿命的希望寄托在遗传工程上。在本世纪有可能破译衰老的遗传密码，通

过后基因组计划和蛋白质组计划可望揭示人类细胞的全部秘密。然后再通过基因工程，使人类的自然寿命达到100岁以上。

衰老实际上是细胞关闭了某些基因。怎样使关闭的基因重新启动，是长寿研究的重要课题。有人通过统计学研究提出，女性之所以比男性寿命长，可能与性染色体差异有关。在X染色体中含有抵抗不利于寿命因素的基因，女性有2条X染色体，而男性只有一条，男性不利寿命的因素相对增加，因而年老的女性比男性多。

心血管功能与寿命密切相关。统计资料表明，心律慢的人比心律快的人长寿，血压较正常偏低者比血压高者寿命长。同时，身材较矮者比高大者长寿，基础代谢率偏低者比基础代谢率高者长寿。而心血管的功能是受多基因控制的，这一点支持了寿命的多基因遗传论。

寿命作为表型是遗传与环境因素相互作用的结果。广义的环境因素应包括社会因素与生存环境因素。所以在不同的地区与社会条件下，群体的平均寿命是有差异的。

四、运动能力的遗传

人体身体素质和运动能力都有明显的遗传性。运动能力包括速度、力量、耐力、灵敏性与柔韧性诸方面。人们早就发现，动物和人的运动能力都有明显的遗传性。例如，赛马用的马、狩猎用的狗、斗鸡用的鸡，都来源于少数几个品种。国内外有许多运动员出生于运动世家。例如，陈镜开、陈满林、陈伟强一家为举重世家，穆祥雄一家为游泳世家，球王贝利一家为足球世家。这些事实都表明运动能力与遗传因素有关。

力量素质是指人体或身体某一部分肌肉工作时克服引力的能力，即肌肉收缩时表现出来的一种做功能力，一般以千克（kg）表示。肌肉收缩力又分为肌肉绝对力和肌肉相对力。肌肉绝对力是指某肌肉或肌肉群最大限度收缩时产生的力量，而肌肉相对力是指每单位面积肌肉力量的大小，即每平方厘米生理横截面积收缩时产生的力，以 kg/cm^2 表示。研究表明，肌肉相对力量主要受遗传因素的影响，遗传率为64.3%；而肌肉的绝对力量则主要受环境因素的影响，其遗传率为35%，后天环境因素影响可达65%。一般耐力（有氧代谢能力）的遗传率为70%～93%，专项耐力（无氧代谢能力）其遗传率为70%～99%。反应速度的遗传率为75%，动作速度的遗传率为50%。速度素质有一定年龄变化曲线，高峰期因人而异。柔韧素质的遗传率为70%，环境因素占30%。灵敏素质也不同程度的受遗传控制，但后天训练在一定程度上能增加灵敏性。

思考题

1. 遗传对人的体表性状有何影响？
2. 简述血型遗传的特点。
3. 智力和寿命可以遗传吗？

（丁显平）

第九章 环境优生学

第一节 环境中有害因素对人类遗传物质的影响

1927 年马勒和 1928 年斯塔德勒分别用电离辐射诱发果蝇、玉米和大麦的基因突变。1951 年和 1966 年拉塞尔和卡塔纳克分别用辐射和化学物质诱发了小鼠的基因突变，并且认为人类的遗传性疾病也可能由环境因素引起。1968 年克利弗发现人类的着色性干皮病患者的皮肤很易光化癌变，并且指出这是由于先天缺乏修复紫外线诱发的 DNA 损伤的能力所致，并明确指出了癌症、环境因素和 DNA 损伤修复之间的关系。

环境中有害因素对人类遗传物质的危害包括三个方面：①致突变效应（mutagenicity），环境中有害因素诱发生殖细胞的基因突变（点突变）和染色体畸变，从而造成子代遗传性疾病发生频率的增加，这种损伤具有遗传性；②致癌效应（carcinogenicity），环境中有害因素诱发体细胞基因突变或在亲代遗传的突变形成的背景上诱发体细胞突变，引起的体细胞恶性转化为癌细胞的作用，一般不具有遗传性；③致畸效应，环境中有害因素作用于发育中的胚胎细胞并干扰了其基因的正常作用，从而影响到胚胎细胞分化和器官系统的发育而导致畸胎的发生，也包括环境因素诱发亲代生殖细胞的基因突变或染色体畸变引起畸胎的作用。致突变、致癌、致畸三者简称为毒理遗传的三致效应。

一、环境中有害物质的致突变作用

1. 突变的概念及类型

突变（mutation）指机体在有害因素的影响下，细胞核内的遗传物质发生变异。具有诱变作用的环境因素称为致突变原（mutagen）。突变发生在染色体，使染色体结构或数目上的改变，称为染色体畸变；突变如局限在 DNA 分子上的某一个片段时，则属于分子水平的损伤，称为基因突变。如果突变发生在生殖细胞上，则可影响妊娠功能致不孕、自然流产、死胎、畸胎或其他出生缺陷。这种致突变作用系发生在受精前，且可以发生在男、女性任何一方的生殖细胞，故所引起的出生缺陷可以遗传给下一代。

2. 致突变的分子机制

环境中的物理、化学或生物因素都有致突变作用，均可引起 DNA 的损伤。

（1）DNA 分子的自发损伤：包括 DNA 复制中的错误和 DNA 的自发性化学变化两类。以 DNA 为模板按碱基配对进行 DNA 复制虽然严密而精确，但并不是完全不发生错误的。碱基配对的错误频率为 1/（10～100），在 DNA 复制过程中在 DNA 聚合酶的作用下碱基错

误配对频率可大大下降。但最终的错配率仍保持在 $1/10^{10}$ 左右，即每复制 10^{10} 个核苷酸大约会有 1 个碱基的错误。生物体内 DNA 分子可以由于各种原因发生化学变化，包括：碱基的异构互变，碱基的脱氨基作用，脱嘌呤与脱嘧啶，碱基修饰与链断裂等。

（2）物理因素引起的 DNA 损伤：最常见的是紫外线引起的 DNA 损伤和电离辐射引起的 DNA 损伤。

DNA 分子损伤最早就是从研究紫外线的效应开始的。当 DNA 受到最易被其吸收波长（260 nm）的紫外线照射时，主要是使同一条 DNA 链上相邻的嘧啶以共价键连成二聚体，相邻的两个 T、或两个 C、或 C 与 T 间都可以环丁基环（cyclobutane ring）连成二聚体，其中最容易形成的是 TT 二聚体。人皮肤因受紫外线照射而形成二聚体的频率可达每小时 5×10^4/细胞，但只局限在皮肤内，因为紫外线不能穿透皮肤。但微生物受紫外线照射后，就会影响其生存。紫外线照射还能引起 DNA 链断裂等损伤。

电离辐射引起的 DNA 损伤有直接效应和间接的效应之分。直接效应是 DNA 直接吸收射线能量而遭损伤；间接效应是指 DNA 周围其他分子（主要是水分子）吸收射线能量产生具有很高反应活性的自由基进而损伤 DNA。电离辐射可导致 DNA 分子的多种变化，包括：碱基变化、脱氧核糖变化、DNA 链断裂、DNA 链交联和 DNA－蛋白质交联等。

（3）化学因素引起的 DNA 损伤：其认识最早来自对化学武器杀伤力的研究，以后对癌症化疗、化学致癌作用的研究使人们更重视突变剂或致癌剂对 DNA 的作用。

①碱基类似物的（base analogue）取代：有些化学物如 5－溴尿嘧啶（5－BU）、5－氟尿嘧啶（5－FU）、2－氨基腺嘌呤（2－AP）等的结构与碱基非常相似，它们能在细胞 S 期与天然碱基竞争并取代其位置。取代后的碱基类似物出现异构互变（tautomerism），发生错误配对而造成碱基置换。

②烷化剂（alkylating agent）的影响：烷化剂是对 DNA 和蛋白质都具有强烈烷化作用的物质，除连接戊糖的氮原子外，其对于多核苷酸链全部氧和氮原子，都能在中性环境中产生烷化作用。烷化作用包括：碱基烷基化，碱基脱落，DNA 链断裂，DNA 链内、DNA 链间以及 DNA 与蛋白质间的交联（cross linkage）等。目前认为，最常发生烷化作用的是鸟嘌呤的 N－7 位，其次是 O－6 位；而腺嘌呤的 N－1、N－3 和 N－7 也易烷化。

③致突变改变或破坏碱基的化学结构：有些化学物质可对碱基产生氧化作用，从而破坏碱基的结构，有时还可引起链断裂。还有些物质可在体内形成有机氧化物或自由基，可间接使嘌呤的化学结构破坏，容易出现 DNA 链断裂。

3. DNA 损伤的修复

DNA 损伤的修复（DNA repairing）是细胞对 DNA 受损伤后的一种反应，这种反应可能使 DNA 结构恢复原样，重新恢复原来的功能。但有时并非能完全消除 DNA 的损伤，只是使细胞能够耐受这种 DNA 的损伤而能继续生存。DNA 修复方式主要如下：

（1）光修复：是最早发现的 DNA 修复方式，它是一种修复紫外线损伤所产生的胸腺嘧啶二聚体的功能。波长为 200 nm～300 nm 的短波紫外线，特别是 260 nm 的，能使 DNA 的碱基形成二聚体。嘧啶对紫外线的损伤要比嘌呤易感 10 倍，最常见的紫外线对 DNA 损伤是相邻两个嘧啶形成的二聚体。修复是由 DNA 光解酶完成的，此酶能特异性识别紫外线造成的核酸链上相邻嘧啶共价结合的二聚体，并与其结合，这步反应不需要光；结合后如受 300 nm～600 nm 波长的光照射，则此酶就被激活，将二聚体分解为两个正常的嘧啶单体，然后酶从 DNA 链上释放，DNA 恢复正常结构。这种修复酶广泛存在于动植物中，人体细

胞中也有发现。

（2）单链断裂的重接：单链断裂是常见的 DNA 损伤，其中一部分可仅由 DNA 连接酶（ligase）参与而完全修复。此酶在各类生物的各种细胞中都普遍存在，修复反应容易进行。但双链断裂几乎不能修复。

（3）碱基的直接插入：DNA 链上嘌呤的脱落造成无嘌呤位点，能被 DNA 嘌呤插入酶（insertase）识别并结合，在 K^+ 存在的条件下，催化游离嘌呤或脱氧嘌呤核苷插入生成糖苷键，且催化插入的碱基有高度专一性并与另一条链上的碱基严格配对，使 DNA 完全恢复。

（4）烷基的转移：对 DNA 的烷化作用可以诱导一种具有专一作用的蛋白质的合成。这种蛋白质称为烷基转移酶或烷基受体蛋白质。该蛋白能将 O^6－烷基鸟嘌呤的烷基转移至酶本身半胱氨酸的巯基上，从而恢复鸟嘌呤的本来结构而达到修复损伤 DNA 的目的。这个酶的修复能力并不很强，但在低剂量烷化剂作用下能诱导出此酶的修复活性。

（5）切除修复（excision repair）：是修复 DNA 损伤最为普遍的方式，是一个多步骤修复过程，对多种 DNA 损伤包括碱基脱落形成的无碱基位点、嘧啶二聚体、碱基烷基化、单链断裂等都能起修复作用。这种修复方式普遍存在于各种生物细胞中，也是人体细胞主要的 DNA 修复方式。

4. 突变的后果

致突变物对机体的作用是通过靶细胞实现的。当靶细胞是体细胞而不是生殖细胞时，其影响仅能在直接接触该物质的亲代身上表现出来，而不可能遗传到子代；只有靶细胞为生殖细胞时，其影响才有可能遗传到子代。

（1）体细胞突变的后果：其中严重的是致癌问题。其次，胚胎体细胞突变可能导致畸胎。当然，畸胎的发生还与亲代的生殖细胞突变有关。据报道，人类妊娠头 3 个月流产中 51%以上有染色体畸变。在一定程度上这是致突变物透过胎盘作用于胚胎体细胞所致，而不完全是亲代生殖细胞突变的后果。

体细胞突变也可能与动脉粥样硬化症有关。因为对于正常动脉壁细胞中的葡萄糖－6－磷酸脱氢酶有两种变异体，而从动脉粥样硬化症同一斑块取下的细胞在电泳中只表现为同一种变异体，故认为动脉粥样硬化斑块是单克隆来源。

体外培养的人类非恶性转化细胞，其寿命都是有限的。这些细胞在传代过程中，细胞遗传学异常率逐渐增高，而有丝分裂逐渐下降。因此可以推测，体细胞突变是衰老的起因。另外，DNA 修复能力缺陷与早衰综合征也有一定关系。

（2）生殖细胞突变的后果：如果突变发生在生殖细胞，无论其发生在哪个阶段，都可能对后代产生一定的影响。其影响后果可分为致死性和非致死性两种。致死性影响可能是显性致死和隐性致死。显性致死即突变配子与正常配子结合后，在着床前或着床后的早期胚胎死亡，引起孕妇流产、早产、死产、死胎等。隐性致死要纯合子或半合子才能出现死亡效应。如果生殖细胞突变为非致死性，则可能出现显性或隐性遗传病，包括先天性畸形。

二、环境中有害物质的致癌作用

环境中的有害因素特别是化学致癌问题是当今社会备受关注的热点之一。其原因是：①近年来肿瘤发病率和死亡率不断增高，发病年龄年轻化；②查明了遗传因素和病毒的生物学因素虽与肿瘤发生有关，但并非是导致肿瘤发病率增高的主要原因；③发现环境化学污染和某些物理有害因素（如紫外线）与肿瘤发病率密切相关。WHO 指出，人类癌症 90%与环

境因素有关，其中主要是化学因素。

1. 与致癌有关的几个基本概念

（1）致癌作用（carcinogenesis）：是指环境有害因素引起或增进正常细胞发生恶性转化并发展成为肿瘤的过程。

（2）化学致癌（chemical carcinogenesis）：是指化学物质引起或增进正常细胞发生恶性转化并发展成为肿瘤的过程。具有这类作用的化学物质称为化学致癌物（chemical carcinogen）。在毒理学中，“癌”的概念很广泛，包括上皮的恶变（癌），也包括间质的恶变（肉瘤）及良性肿瘤。凡能引起这些恶变或良性肿瘤的物质都可称之为致癌物。这是因为迄今为止尚未发现只诱发良性肿瘤的致癌物，而且良性肿瘤有恶变的可能。

（3）癌基因（oncogene）：携带致癌遗传信息的基因就是癌基因。

（4）原癌基因（proto-oncogene，c-onc）：正常细胞中也存在着在核酸水平及蛋白质产物水平与病毒癌基因高度相似的DNA序列，称为原癌基因。在正常细胞中原癌基因的表达并不引起恶变，其表达受到严密控制，并似乎对机体的生长和发育具有作用。随着相关研究报告的增多，“癌基因”和“原癌基因”这两个名词区分并不严格。

（5）肿瘤抑制基因（tumorsuppressor gene）：又称抗癌基因（antioncogene），是指抑制肿瘤细胞的肿瘤性状表达的基因，只有当它自己不能表达或其基因产物去活化才容许肿瘤性状表达而导致肿瘤发生。第一个被发现的肿瘤抑制基因是人类视网膜神经胶质瘤基因（Rb）。还有一些基因，如P53基因，也是最近发现的肿瘤抑制基因。值得注意的是P53如发生突变，则成为癌基因并具有使细胞获得无限增殖的能力。

2. 致癌物的种类

化学致癌物种类繁多，根据致癌物在体内发挥作用的方式可分为直接致癌物和间接致癌物。有些致癌物可以不经过代谢活化即具有活性，称为直接致癌物（direct acting carcinogen）；而大多数致癌物必须经代谢活化才具有致癌活性，称为间接致癌物（indirect acting carcinogen），在其活化前称为前致癌物（procarcinogen），经过代谢活化后的产物称为终致癌物（ultimate carcinogen），在活化过程中接近终致癌物的中间产物称为近似致癌物（proximate carcinogen）。现在普遍认为致癌物分为如下三大类：

（1）遗传毒性致癌物：包括直接致癌物、间接致癌物和无机致癌物等。

①直接致癌物：其化学结构的固有特性是不需要代谢活化即具有亲电子活性，能与亲核分子（包括DNA）共价结合形成加合物（adduct）。这类物质绝大多数是合成的有机物，包括有内酯类，如β-丙烯内酯、丙烷磺内酯和a,β-不饱和六环丙酯类；烯化环氧化物，如1,2,3,4-丁二烯环氧化物；亚胺类；硫酸类酯；芥子气和氮芥；活性卤代烃类，如双氯甲醚、苄基氯、甲基碘和二甲氨基甲酰氯，其中双氯甲醚的高级卤代烃同系物随着烷基的碳原子增多，致癌活性下降。

除前述烷化剂外，一些铂的配位络合物，如二氯二氨基铂、二氯（吡咯烷）铂，以及二氧-1,2-二氨基环己烷铂也有直接致癌活性，通常其顺式异构体的活性较反式异构体高。

②间接致癌物：这类致癌物往往不能在接触的局部致癌，而在其发生代谢活化的组织中致癌。前致癌物可分为天然和人工合成两大类。人工合成的包括有：多环或杂环芳烃，如苯并(a)芘、苯并(a)蒽、3-甲基胆蒽、7,12-H甲苯并(a)蒽、二苯并(a,h)蒽等；单环芳香胺，如邻甲苯胺、邻茴香胺；双环或多环芳香胺，如2-萘胺、联苯胺等；喹啉，如苯并(g)喹啉等；硝基呋喃；偶氮化合物，如二甲氨基偶氮苯等；链状或环状亚硝胺类等几乎都

致癌。但随着烷基的不同，作用的靶器官也不同；烷基肼中二甲肼可致癌，肼本身有弱致癌力；甲醛和乙醛，氨基甲酸酯类中的乙酸、丙酯和丁酯均致癌，其中以氨基甲酸乙酯（乌拉坦，亦称脲烷）致癌能力最强；卤代烃中的氯乙烯的致肝癌作用在近年受到广泛注意，其特点是诱发肝血管肉瘤。

天然物质及其加工产物在国际抗癌联盟（IARC）1978年公布的34种人类致癌物中占5种，包括黄曲霉素、环孢素、烟草和烟气、槟榔及酒精性饮料。

黄曲霉素 B_1 是最强烈的致癌物之一，黄曲霉素 G_1 的致癌能力则低得多。黄曲霉素 B_2 和 G_2 本身不致癌，但认为 B_2 在体内小部分可经生物转化成为 B_1，故也有一定致癌能力。黄曲霉素 B_1 对人和各种实验动物（除小鼠外）都能诱发肝癌，在特殊条件下可诱发肾癌和结肠癌。

一些毒菌的产物，如环孢素、阿霉素、道诺霉素、更生霉素也是前致癌物。这些物质常作为药物使用。烟草即使未经燃烧和热解也会含有亚硝基去甲菸碱等致癌物。烟草的烟气中更含有多种致癌物，如多环芳烃、杂环化合物、酚类衍生物等。烟草的烟气中还含有大量促癌物，这就是提倡戒烟的原因之一。嚼食烟叶和使用鼻烟时所含的亚硝胺能诱发口腔癌和上呼吸道癌。槟榔中的槟榔碱可形成亚硝胺，口嚼槟榔使口腔癌和上消化道的癌症发生率和死亡率增高。

③无机致癌物：钴、镭、氡可能由于其放射性而致癌。镍、铬、铅、铍及其某些盐类均可在一定条件下致癌，其中镍和钛的致癌性最强。

（2）非遗传毒性致癌物：指根据目前的试验证明不能与DNA发生反应的致癌物。

①促癌剂：虽然促癌剂单独不致癌，却可促进亚致癌剂量的致癌物与机体接触启动后致癌，所以认为促癌作用是致癌作用的必要条件。TPA是二阶段小鼠皮肤癌诱发试验中的典型促癌剂，在体外多种细胞系统中有促癌作用。苯巴比妥对大鼠或小鼠的肝癌发生有促癌作用。色氨酸及其代谢产物和糖精对膀胱癌也有促癌作用。近年来广泛使用丁基羟甲苯（butylated hydroxy-toluene，BHT）作为诱发小鼠肺肿瘤的促癌剂，对肝细胞腺瘤和膀胱癌也有促癌作用。DDT、多氯联苯、氯丹、TCDD是肝癌促进剂。

②细胞毒物：传统的理论认为慢性刺激可以致癌，目前认为导致细胞死亡的物质可引起代偿性增生，以致发生肿瘤。其确切机制尚不清楚，可能涉及机体对环境有害因素致癌作用的易感性增高。一些氯代烃类促癌剂作用机制可能与细胞毒性作用有关。

氮氚三乙酸（nitrilotriacetic acid，NTA）可致大鼠和小鼠肾癌和膀胱癌，初步发现其作用机制是将血液中的锌带入肾小管超滤液，并被肾小管上皮重吸收。由于锌对这些细胞具有毒性，可造成其损伤并导致细胞死亡，结果是引起增生和肾肿瘤形成。在尿液中NTA还与钙络合，使钙由肾盂和膀胱的移行上皮渗出，以致刺激细胞增殖，并形成肿瘤。

③激素：40年前多就发现雌性激素可引起动物肿瘤。此后发现多数干扰内分泌器官功能的物质可使这些器官的肿瘤增多。雌激素的致癌机制尚不清楚，但很可能与促癌作用有关；一般认为需要长期在体内维持高水平激素才能在内分泌敏感器官中诱发肿瘤。

孕妇使用人工合成的雌激素（己烯雌酚，DES）保胎时，可能使青春期女性发生阴道透明细胞癌。其机制十分复杂。

④免疫抑制剂：免疫抑制过程从多方面影响肿瘤形成。硫唑嘌呤、6－巯基嘌呤等免疫抑制剂或免疫血清均能使动物和人发生白血病或淋巴瘤，但很少发生实体肿瘤。环孢素是近年器官移植中使用的免疫抑制剂，曾认为不致癌。但现已查明，使用过该药患者的淋巴瘤的

发生率增高。

⑤固态物质：啮齿动物皮下包埋塑料后，经过较长的潜伏期，可导致肉瘤形成。其化学成分并不重要，只要是薄片，即使是金属也和各种塑料同样可导致肿瘤形成。关键是大小和形状，而且光滑者比粗糙者更有效，有孔的比无孔的效果差。其作用机制可能是固态物质可对上皮成纤维细胞增殖提供基底。石棉和其他矿物粉尘，如铀矿或赤铁矿粉尘，可促进吸烟致肺癌的作用。

⑥过氧化物酶体增生剂：具有使啮齿动物肝脏中的过氧化物酶体增生的各种物质都可诱发肝肿瘤。已发现的过氧化物酶体增生剂有：降血脂药物安妥明（对氯苯氧异丁酸乙酯，clofribate）、降脂异丙酯（fenofibrate）、哌磺氯苯酸（tibric acid）、增塑剂邻苯二甲酸二（2－乙基已基）酯和有机溶剂 1,1,2－三氯乙烯。安妥明和邻苯二甲酸二（2－乙基已基）酯对肝肿瘤有促进作用，但不能以促癌作用来概括这类物质的致癌机制。目前认为，肝过氧化物酶体及 H_2O_2 增多，可导致活性氧增多，发生信号传导作用，造成 DNA 损伤并启动致癌过程。

（3）暂未确定遗传毒性的致癌物：前已述及某些卤代烃类为遗传毒性致癌剂，另一些为促癌剂。还有一些的致癌方式尚未完全阐明，如四氯化碳、氯仿、某些多氯烷烃和烯烃等。这些物质在致突变试验中为阴性或可疑，体内和体外研究又未显示出能转化为活性亲电子性代谢产物。硫脲、硫乙酰胺、硫脲嘧啶和相似的硫酰胺类都有致癌性，其靶器官是甲状腺，有时可为肝脏。噻吡二胺（methapyrine）这种抗组织胺药物曾在美国广泛用作催眠药，后来发现能诱发大鼠肝癌。

3. 致癌物质引起的遗传学改变

致癌物质引起细胞的遗传学改变包括基因突变、基因扩增、染色体重排和非整倍性。已经观察到点突变和染色体重排在某些肿瘤中使原癌基因（prooncogene）激活和肿瘤抑制基因（tumour suppressor）失活；同样也观察到基因扩增和染色体数目改变对许多类型肿瘤的发生具有重要作用。一般认为，化学物质通过诱发基因突变或染色体突变（如缺失、插入、易位、扩增和数目改变），导致某一关键靶基因的可遗传改变对肿瘤的形成是必需的。在环境有害因素作用下，部分原癌基因结构发生改变，引起异常激活成为癌基因（oncogenes）。已发现的癌基因有 100 多种。虽然它们的功能各不相同，但大体上可归纳为生长因子、生长因子受体、信号传导物、蛋白激酶和转录激活物等几大家族。肿瘤抑制基因，也称抑癌基因或抗癌基因（anti－oncogen），是细胞内一类能对抗肿瘤作用的基因。已发现的有十几种。抑癌基因能够阻断肿瘤细胞的生长，往往在细胞癌变或恶变的同时自身失活或丢失，但在化学物质诱导的肿瘤中极少能够观察到。其主要原因是涉及动物肿瘤发展的抑癌基因尚不清楚，有待进一步研究阐明。一般认为，肿瘤的发生是癌基因和抑癌基因改变积累的结果。

致癌物可直接诱发关键靶基因的遗传损伤，如 DNA 加成物；也可间接诱发遗传损伤，如纺锤体功能的干扰或活性氧自由基的生成，过氧化物酶体的过量增殖等。

三、环境中有害物质的致畸作用

1. 致畸作用的概念

致畸（teratogenesis）作用是指环境中有害物质作用于妊娠母体，干扰胚胎的正常发育，引起胚胎结构发育异常，导致新生儿先天性畸形的作用。20 世纪 60 年代初，西欧和日

本出现了一些畸形新生儿。科学家们经过研究发现，原来孕妇在怀孕头 30～50 天，服用了一种叫做“反应停”的镇静药，这种药具有致畸作用。能引起畸胎发生的环境因素称致畸原（teratogen），包括物理的、化学的或生物学的因素，这些因素通常影响胚胎的正常发育，引起的后果表现为：①生长迟缓（growth retardation），即胚胎的发育过程在有害环境因素影响下，较正常的发育过程缓慢。②致畸作用（teratogenicity），由于有害因素的干扰，使胎儿在出生时，某些器官表现形态结构异常。致畸作用所表现的形态结构异常，在出生后立即可被发现。③功能不全和异常，即胎儿的生化、生理、代谢、免疫、神经活动及行为的缺陷或异常。大多在出生后一定时间才被发现。④胚胎致死作用（embryolethality），某些外源性有害因素在一定的剂量范围内，可在胚胎发育期间对胚胎具有损害作用，并使其死亡。具体表现为自然流产、死产、死胎等。

2. 致畸作用的机制

有很多因素可以诱发畸形，如辐射和某些病毒感染都具有致畸作用，但主要是化学因素，即某些外源性化学物质。人类对外源性化学物质致畸作用的认识和研究，虽然已有 30 年以上历史，但关于其确切机制尚待阐明，未能形成系统化理论。畸形发生的机制如下：

（1）基因突变和染色体畸变：有些外来环境有害因素作用于生殖细胞或体细胞，都可诱发基因突变和染色体畸变，以致 DNA 的结构和功能受损，造成胚胎正常发育障碍，出现畸形，并具有遗传性。有人观察到发生染色体畸变的细胞，与透过胎盘的环境有害因素接触后，一般在 24 h 内消失。即使存在稳定的畸变，如小缺失（small deletion）、倒位（inversion）和相互易位（reciprocal translocation）等，经过几个细胞分裂周期也不再存在。所以认为染色体畸变或突变可能并非致畸的直接原因，更有可能是由于外源性化学物质对胚胎组织中 DNA 损害引起的 DNA 合成减少。

（2）核酸复制、转录及细胞有丝分裂过程受到干扰，也可引起畸变。

（3）细胞内必需的能量和前体物（precursor）供应不足或代谢过程受到干扰。母体中维生素和无机盐失调、低血糖、缺氧等都可造成畸形。由于胚胎组织增殖速度极快，在短时间内需要消耗大量代谢能量，当能量代谢环节（如三羧酸循环）受到破坏和外源性环境有害因素对生物合成前体物呈现竞争性抑制，也可造成畸形。

（4）在细胞分化、增殖过程中，一些重要酶类的抑制或破坏，将影响胚胎正常发育过程，并引起畸形，如核糖核酸酶、DNA 聚合酶、碳酸苷酶等。

（5）在细胞膜正常结构以及渗透性等生物、物理性质改变的情况下，也可出现畸形。

3. 先天性畸形的发生方式

胚胎发育的全过程实际上是受精卵内的遗传信息规律表达的过程。细胞、组织、器官及整体胚胎的形成，均遵循严格的发育规律，整个过程是由基因调控来实现的，任何环节受到干扰都可导致畸形发生。先天性畸形的发生方式可归纳为以下几种：

（1）不发育：器官原基形成受阻，导致器官或躯体局部不发育或完全缺如，如无头无心综合征、肺不发育、心脏间隔不发生、肢体不发生等。

（2）发育不全：正常发育受到影响导致发育不全，如小眼、小颌、肺发育不全等。

（3）发育受阻：器官发育受阻，中途停止。例如，融合过程受阻，导致唇裂、腭裂、双角子宫、尿道下裂等；迁移不全，导致低位耳、异位肾、隐睾等；吸收不全，导致肛门闭锁、副乳、蹼状指等；旋转不全，导致内脏转位畸形等。

（4）原基粘连或分裂：相邻原基之间发生粘连，如马蹄肾；原基发生分裂，如分裂输

尿管。

（5）发生过度：胚胎某一原基分裂为2个或多个，并在此基础上进一步发育所形成的畸形，如多指（趾）、双肾盂等。有的则是过度生长，如巨指（趾）、大耳垂等。

（6）不典型分化：胚胎发生中分化异常形成胚胎性肿瘤，如Wilms瘤、神经母细胞瘤、畸胎瘤等。

4. 先天性畸形的分类

（1）根据涉及的器官和部位多少分为单发畸形和多发畸形。前者涉及某一组织或器官畸形，后者涉及两种或两种以上组织或器官畸形。有的多发畸形随机出现在一个个体上，没有特定规律或形式；有的多发畸形可以进一步诊断为综合征、序列征和联合征等。

①综合征：指一群或几种畸形，经常共同出现在一个个体中。综合征由同一病因所致，如风疹综合征表现为先天性白内障、耳聋、先天性心脏病。

②联合征：指一群或几种畸形常伴随在一起，出现在同一个体中，但不如综合征那样恒定，也不是偶然的巧合。例如，VATER联合征，由脊柱（V）、肛门（A）、气管（T）、食管（E）、肾（R）等畸形联合而成。联合征可能系不同病因所致。

③阻断症：指胎儿因体外的某些因素如羊膜带或体内血栓形成等原因，使组织、器官在发育中受阻或破坏，造成畸形。例如，羊膜带阻断症就是因羊膜形成呈片状或带状结构，缠绕或包裹在发育胚胎的颜面、肢体、躯干上，引起发育受阻，造成面裂、肢体短缩等。

④序列征：在某种因素影响下，组织、器官先产生一种畸形，由此畸形导致相关组织、器官进一步产生一系列畸形，这一连串发生的畸形称为序列征。例如，桡骨发育不良导致拇指发育异常，前全脑引起的独眼、独鼻畸形等。

（2）根据畸形的严重程度分为严重畸形和微小畸形。严重畸形常伴有严重功能障碍而危及生命，常出现流产、死产或生后不久死亡，如无脑畸形、脑膨出等；微小畸形通常指不影响患者生存，即使需要手术干预，其畸形程度也不危及生命的畸形，如附耳、副乳等，临床上易被忽略。据统计，14%～40%的活产儿有微小畸形。值得关注的是，同时出现3个或以上微小畸形者伴有严重畸形的可能性为20%～90%。表9－1是美国出生缺陷监测系统所纳入监测的微小畸形，供参考。

表9－1　常见的微小畸形

器官	中文名称	英文名称
眼	内眦赘皮	Epicanthal folds
	Brushfiel天斑	Iris freckles，Brushfield spots
	裂睑上斜或下斜	Upward or downward palpebral slant
耳	达尔文结节（耳廓结节）	Darwinian point or tubercle
	耳轮增厚或过多皱褶	Thickened or excessively folded helix
	耳轮褶缺乏	Lack of helical folding
	耳垂褶，切迹或分裂	Creased notched，or bifid ear lobe
	低位、杯状或后倾耳	Low，cup－shaped，or retroverted ear
	耳前瘘管，囊，窝或皮肤附属物	Preauricular sinus，cyst，pit，or skin tag

续表9-1

器官	中文名称	英文名称
头、面和颈	枕骨扁平	Flat occiput
	额部隆起	Frontal bossing
	扁平额	Flat brow
	扁平鼻或隆突鼻梁	Flat or prominent bridge of nose
	前倾鼻孔	Anteverted nostrils
	长的鼻膈	Long nasal septum
	颈蹼或多余皮肤	Webbed or redundant neck skin
手和足	通贯掌纹	Single or horizontal palmar crease
	手指弯曲	Clinodactyly
	变细手指	Tapered fingers
	重叠指	Overlapping digits
	第2和第3脚趾间距增宽或有蹼	Webbed or widely spaced 2^{nd} and 3^{rd} toes
	跟骨突出	Prominent heel
其他	骶骨小凹	Sacral dimple
	痣	Nevi
	牛奶咖啡斑	Café-au-lait spots
	蒙古样斑	Mongolian spot
	副乳	Accessory nipples
	脐疝	Umbilical hernia
	阴道附属物	Vaginal tag
	单脐动脉	Single umbilical artery

第二节 环境中有害物质对优生的影响

除了遗传因素之外，环境因素对优生的影响亦非常大。胎儿在胚胎发育过程中，特别是在妊娠3~8周环境中的有害因素会影响胎儿器官的正常发育，诱发畸形，严重时还会引起流产、早产、死产、死胎等。

环境中的有害因素主要包括生物因素、化学因素、物理因素和药物因素等。

生物因素是影响优生较为重要的因素之一，特别是母亲在孕期受到某些病原体感染时(包括病毒、细菌、寄生虫等)，这些病原体能通过胎盘绒毛屏障或子宫颈上行感染胎儿，引起胎儿畸形。

化学因素常见有农药如敌敌畏、敌百虫、有机氯、有机汞、二溴氯丙烷、敌枯双等和铅、镉、汞、锰、铝等重金属，以及氯乙烯、氯丁乙烯、丙烯腈等高分子化合物等。

物理因素是指人们在日常生活和生产劳动中存在的气象条件、辐射、噪声和振动等。引

起致畸的主要是辐射，如X射线、各种其他放射线。辐射可引起染色体畸变而导致胎儿发生畸形。

药物因素常见有大多数抗肿瘤药有毒性，胚胎细胞对抗肿瘤药物比成熟分化的细胞敏感，因此这类药物大多在较低剂量时就对胚胎产生较大的损害。抗生素类药物如链霉素、卡那霉素，以及大部分抗结核药、激素类和活疫苗等在孕早期（即致畸敏感期）使用均有致畸危险。

一、环境中有害因素在孕期不同阶段影响的特点

卵受精后第1～2周，是细胞发生卵裂、胚泡形成、植入和内外双胚层形成时期。受到环境致畸因子的作用可能出现两种转归。如果致畸因子作用弱，只损伤少量细胞，其他未受损伤的胚胎细胞正常分裂增殖，因其代偿力强，使整个胚胎正常发育而不发生畸形，此期属非致畸敏感期。如果致畸因子作用强，胚胎的全部细胞或大部分细胞遭受破坏，引起胚胎死亡而自然流产。据统计约50%的妊娠终止于这个阶段，故又称为最大毒性期。即通常所说的“全”或“无”现象。但这并不意味着绝对无畸形发生，如受精第1～8天缺氧，胎儿可能发生眼缺陷。

卵受精后第3～8周，是胚胎发育的关键期。此期胚胎细胞分裂增殖旺盛、分化明显、形态复杂多样，大部分器官原基形成。器官原基出现和分化时对致畸因子最敏感，最易受干扰而发生器官形态异常，此期为致畸敏感期。

受精后第9周到胎儿出生，初步形成的各器官系统进行组织分化和功能分化，90%的器官系统已经形成，功能逐渐趋于完善。对致畸因子的敏感性下降，受到致畸因子的作用时，产生轻微的畸形或功能障碍。此期虽然不是致畸的敏感期，但仍能引起少数器官系统发生畸形。例如，神经系统、泌尿生殖系统和颜面等组织的分化时间较长或发生较晚，这些结构对致畸因子的敏感期较长。

二、环境生物因素与优生

孕妇感染可引起胎儿宫内感染，导致流产、死胎、先天性畸形、宫内发育迟缓、智力低下、新生儿死亡等不良后果。其危害程度与宫内感染的时间、病原微生物的种类，以及感染时的母体状况等因素有关。孕早期感染引起胎儿流产和各种先天性畸形；孕晚期感染导致早产、羊膜早破和新生儿感染。许多孕妇感染后并不一定出现明显的临床表现，常常被忽略而未得到及时治疗。

常见的病原体有：①病毒，包括风疹病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、乙肝病毒、流感病毒、人类细小病毒B_{19}、人乳头瘤病毒、艾滋病病毒等；②细菌，如淋病奈瑟菌（淋球菌）；③原虫，如弓形体；④其他病原体，包括沙眼衣原体、解脲支原体、梅毒螺旋体。

宫内感染可引起一系列不良后果，其危害程度与发生宫内感染的时间、微生物的种类、感染时母体状况等有关。孕早期感染引起胎儿流产、各种先天性畸形，如神经管缺陷、内脏畸形、颜面发育异常、肢体缺损等。孕晚期感染导致早产、羊膜早破和新生儿感染。

造成宫内感染的主要途径有：①病原微生物通过血液经胎盘垂直传播；②孕妇下生殖道感染的上行性扩散；③分娩中新生儿通过软产道时受到感染。

1. 风疹病毒感染

风疹病毒（RV）是导致胎儿先天性畸形的主要病原微生物之一。风疹病毒通过呼吸道

传播，人群对其普遍敏感。孕妇感染风疹病毒后50%以上不会出现皮疹等明显表现。1964年美国曾发生风疹大流行，导致近2万名畸形儿降生。风疹病毒导致胎儿畸形主要有先天性白内障、耳聋和心血管系统缺陷等，称为先天性风疹综合征（CRS三联症）。部分婴儿出生时无症状，但随后出现先天性疾病，如视力及听力损坏、神经系统缺陷、智力发育迟缓等。不同孕期宫内风疹病毒感染对胎儿的影响有显著差异。据统计学资料显示，怀孕1～2月时感染风疹，致畸率为90%；怀孕4个月时感染风疹，致畸率在50%以上；孕4个月以上感染，致畸率为6%左右。因此，孕前期和孕早期预防风疹病毒对防止胎儿发生先天性风疹综合征具有重要意义。育龄妇女接种风疹疫苗预防风疹病毒感染是降低胎儿出生缺陷的重要措施。注意应在接种风疹减毒活疫苗后3个月内避孕，以防止疫苗病毒进入胎儿体内而产生危险。

2. 巨细胞病毒感染

巨细胞病毒（CMV）在人群中普遍存在，通过输血、日常生活接触、性接触传染给其他人。巨细胞病毒经胎盘、生殖道、哺乳传染给子代。孕妇感染巨细胞病毒后一般不会出现临床症状。宫内感染后，胎儿可能出现流产、早产及出生缺陷，如紫癜、肝脾大、小头畸形、发育迟缓、腹股沟疝、智力低下及大脑钙化等。在围生期感染的新生儿中约有20%有明显的临床症状或生后不久出现神经或精神运动性障碍。

3. 单纯疱疹病毒感染

单纯疱疹病毒（HSV）分两种类型：HSV－Ⅰ和HSV－Ⅱ型。引起人类生殖道感染的主要是HSV－Ⅱ型，主要通过性传播。孕妇感染后其经产道上行至羊膜腔，或经血液循环通过胎盘感染胎儿。妊娠20周前宫内HSV－Ⅱ型感染，可能造成流产、死胎、先天性畸形（如小头畸形、肝脾大、脉络膜视网膜炎）等；20周后HSV－Ⅱ型感染则易引起早产，引起出生缺陷的报道不多；分娩时造成的新生儿HSV－Ⅱ型感染，表现为全身或局部的疱疹、肝炎、心包炎及脑炎等。

4. 弓形虫感染

弓形虫（TOXO）以猫为终宿主，弓形虫的卵囊从猫粪便中排出，弓形虫的孢囊存在于哺乳动物的肉、禽类的肉及蛋中。人食入弓形虫的卵囊或孢囊后，产生弓形虫病。一般孕妇感染弓形虫后没有什么明显的症状。弓形虫可以通过胎盘、生殖道等感染胎儿或新生儿。有资料表明，孕妇在孕早期感染弓形虫时胚胎宫内感染率约为15%，孕中期约为25%，孕晚期约为60%。孕早期感染可出现流产、死胎，以及脉络膜视网膜炎、无脑、小头、智力低下、小眼、耳聋、四肢畸形等多种出生缺陷。晚期感染或分娩时经生殖道感染一般为隐性感染，但出生后可出现脑炎、眼病、急性或慢性弓形虫病。

5. 其他病原体感染

（1）乙肝病毒（HBV）感染：如果孕妇在妊娠期患急性乙型病毒性肝炎，乙肝病毒e抗原为阳性，或孕妇血液中检测到乙肝病毒者，胎儿宫内感染乙肝病毒的可能性较大。先天感染乙肝病毒的婴儿出生时可发生体重轻、婴儿肝炎、肝硬化等。

（2）丙肝病毒（HCV）感染：研究发现，血液中存在丙肝病毒RNA的孕妇，多数分娩出的小孩有丙肝病毒感染并伴有肝脏病变。

（3）人细小病毒B_{19}感染：B_{19}病毒通过胎盘进入胎儿体内，抑制胎儿造血系统，致使其贫血、缺氧、心衰及宫内发育迟缓，出现流产、积水型死胎。

（4）人乳头瘤病毒（HPV）感染：HPV可以通过孕妇血液循环经胎盘、羊水感染胎

儿，胎儿经产道吞咽含 HPV 的阴道分泌物而感染。目前观察，HPV 感染与死产、宫内发育迟缓、发育异常、高胆红素血症等无关，但可引起新生儿先天性肛周多发性尖锐湿疣及青少年喉乳头瘤。

（5）艾滋病病毒（HIV）感染：HIV 母婴传染率为 30%～50%。胚胎感染 HIV 后可发生小头畸形等头面部畸形，也可在出生后半年发生艾滋病。

（6）沙眼衣原体和解脲支原体感染：近年来我国生殖器官沙眼衣原体和解脲支原体的感染率日趋增高，越来越引起人们的关注。妇女输卵管感染沙眼衣原体或解脲支原体后，可能导致输卵管阻塞，继发不孕。妊娠期间，胚胎宫内感染这两种病原体，可出现低体重、早产、胎膜早破等，给新生儿带来严重后果。

（7）梅毒螺旋体感染：梅毒螺旋体母儿传染率为 50%～90%。一般认为，梅毒螺旋体感染后对胚胎的损害主要是由孕妇的免疫反应决定的，而不是螺旋体的直接毒性作用。如果梅毒患者在妊娠第 4 个月前得到合理治疗，可娩出正常胎儿；如未治疗，则出现死胎、先天性梅毒或生后不久死亡。早期先天性梅毒在出生后 2 周内发病，出现皮肤苍白、松弛，营养不良，伴有低热。生后 1～2 个月皮肤出现斑丘疹、水疱、脓疱、脱屑，肝脾大、黄疸、淋巴腺肿、脉络膜视网膜炎等。晚期先天性梅毒症状多在 2 岁后出现，可以出现皮肤、黏膜、骨骼损害及内脏损害等。

（8）柯萨奇 B 组病毒（CBV）感染：柯萨奇病毒属肠道病毒，可分为 A、B 两组，其血清型较为复杂。柯萨奇 B 组病毒易发生子宫内感染。孕妇常在 CBV 流行时受到感染，病毒可经胎盘感染胎儿。在新生儿之间亦可发生水平传播。如果感染发生在妊娠头 3 个月则受累胎儿可发生多种畸形。CBV 分 1～6 型，感染 CBV1、CBV4 时，胎儿易发生泌尿生殖系统畸形，如尿道下裂、阴道上裂、隐睾症及鞘膜积液等；感染 CBV3、CBV6 时，患儿易出现肌肉、骨骼及神经系统畸形，以及生长发育迟缓等。

（9）沙眼衣原体（CT）感染：CT 是介于细菌和病毒之间的微生物，是非淋菌性尿道炎（NGU）的主要病原体。有人报道，NGU 中 50%以上是由 CT 引起的。常通过不洁性交而感染，女性患者症状常不明显，成为潜在的传染源。妇女感染后，可发生上行感染引起急性输卵管炎、子宫内膜炎、阴道炎、盆腔炎，导致宫外孕、不育不孕等。孕妇感染可引起流产、早产、死胎等。

（10）解脲支原体（UU）感染：UU 是介于细菌和病毒之间的一种细小的微生物，主要通过性接触传播，也可通过衣物、用具、工作环境及未经严格消毒的妇产科检查器械等间接传播，可引起非淋菌性尿道炎（NGU），不育不孕症、宫外孕、流产、死胎、慢性前列腺炎等疾病。其感染常与淋球菌、CT 和 CMV 合并存在。NGU 患者中 20%～30%能分离出 UU。一般女性的感染率较高，UU 的阳性率有时可达 75%。根据笔者的长期研究，CT 和 UU 是引起继发性不育不孕的常见原因，应引起高度重视。

三、环境化学因素与优生

化学因素包括空气化学组成（O_2、CO_2、N_2 等），有害气体（空气中的污染物），固体粒子（金属、无机及有机化合物），水体成分中的有机和无机化合物，土壤的化学成分（N、P、I、F 及重金属），药物、农药、食品营养成分及食品添加剂、烟、酒、咖啡因等。这些因素是迄今研究致畸、致癌、致突变作用最广的因素。

1. 原生环境化学因素与出生缺陷

（1）缺碘环境与碘缺乏病：碘是地壳中含量较少的非金属元素，我国是碘缺乏较为严重的国家之一，我国缺碘地区分布在全国除上海市以外的29个省、市（自治区）。碘是合成甲状腺素不可缺少的微量元素。甲状腺素是调节细胞内合成蛋白质的重要激素，当甲状腺素缺乏时，细胞中蛋白质难以合成，细胞就难以正常分裂、增殖，组织器官也就无法正常生长发育。地方性克汀病是碘缺乏病最严重的一种，表现为眼距宽、鼻翼宽、口唇厚、聋哑、矮小、痴呆和运动系统功能障碍。孕妇早期缺碘时发生胎儿早产、死产、先天性畸形发生率高。胚胎期严重缺碘时将导致永久性脑损害，一经发现，即使补足碘，脑的损伤也不可逆转。胚胎轻度缺碘时可导致发育迟缓、神经运动功能发育落后及胎儿、新生儿甲状腺功能低下。1993年统计，我国智力低下患者有1 017万人，其中80%以上是因为缺碘造成的。20世纪90年代，我国制定的《中华人民共和国母婴保健法》规定对育龄妇女和孕产妇关于碘缺乏病的防治条例，《90年代中国儿童发展纲要》规定2000年基本消除儿童碘缺乏病。此后，在我国对缺碘地区实行全民补碘，可见我国政府对此问题的重视。

（2）高氟区与先天性氟中毒：氟是地壳中分布广泛的一种非常活跃的非金属元素，由于地质和地球化学条件的变异，常形成一些高氟地区。我国除上海市以外，各省、市（自治区）均有高氟地区。氟是人体必需微量元素，生理范围内的氟量对骨及牙齿发育、防止龋齿发生有重要作用。过量的氟可致钙磷代谢平衡破坏，氟与钙、镁等离子形成难溶的氟化物时，使许多酶受到抑制造成机体的物质代谢和生理功能发生障碍。氟能通过胎盘进入胎儿体内，检测高氟区孕妇的血和尿氟水平发现，随着孕妇血、尿氟水平升高，其羊水氟含量也升高，而羊水氟含量高的胎儿股骨有明显病理改变，表现为骨生成活跃且紊乱。母体摄入过量氟时，可直接影响胎儿釉细胞，使釉质形成和钙化发生障碍，引起斑釉症，表现为出生后婴幼儿期的乳牙氟斑牙。有研究显示，地方性氟中毒流行地区的胎儿大脑、海马及小脑皮质神经细胞发育较差，细胞体积小，分布密集。在对地方性氟中毒地区的调查中发现，调查区的儿童生长发育和智力均受到影响。

（3）先天性砷中毒：砷属于“类金属”元素，广泛存在于自然界中。在我国台湾的西海岸和新疆奎屯有局部高砷地区，其他地区环境高砷主要来自工业污染。砷对体内酶蛋白的巯基具有特殊的亲和力，使多种含巯基的酶失去活性，影响细胞的正常代谢。有资料显示，居民长期饮用受砷污染的水，可导致姐妹染色体互换率增加。在人群流行病学调查中发现，高砷地区流产和不正常妊娠者显著高于对照组。目前，砷的致畸作用已趋于肯定。

2. 环境化学因素及职业因素与出生缺陷

（1）汞及其化合物：汞以金属汞、无机汞和有机汞三种形态存在于自然界中。汞能通过不同途径进入胎儿体内。有机汞、无机汞均可蓄积在胎盘上，引起胎盘结构和功能改变。金属汞和有机汞能够透过血睾屏障，男性接触者可发生阳痿、性欲减退、精液质量下降；接触金属汞的女性月经紊乱及异常妊娠结局（流产、早产、难产及畸形）的发生率明显增高。汞蒸气可迅速通过胎盘进入胎儿脑组织。动物实验发现，有机汞的影响较无机汞严重。在有机汞化合物中，甲基汞是公认的致畸物。日本水俣地区发生的胎儿先天性水俣病就是孕妇食用受富含甲基汞的鱼贝类造成的慢性甲基汞中毒所致。

（2）铅：铅是一种质软的金属，是最常见的工业毒物。铅及其化合物在现代工业中应用极为广泛，如蓄电池、油漆、冶炼、印刷、搪瓷和塑料等行业广泛使用铅。动物实验发现，铅可存留于睾丸组织的任何部位，损伤生精细胞、间质细胞，造成不育。醋酸铅可诱发小鼠

精原细胞及初级精母细胞染色体畸变。男性接触者，精子量减少、活力降低、畸形增多；女性接触者，出现月经异常、自然流产、早产、畸形儿发生率增加。铅具有神经毒性，对未发育成熟的胎儿神经系统影响极大，导致出生后智力低下、行为障碍。铅可在体内长期蓄积，应高度重视母体铅负荷对后代的远期影响。准备怀孕的妇女应远离铅污染环境。

（3）镉：镉是一种金属，在工业上常用于镉电镀、染料、油漆、搪瓷以及电子元件制造。通过动物实验发现，镉是一种神经毒物，可损伤神经细胞。啮齿类动物受孕早期摄入过量的镉有致畸作用，可出现脑膨出、脑水肿、腭裂、小眼等。多种途径给予动物镉均发现有胚胎毒性和致畸作用。有资料显示，孕妇镉中毒，致使胎儿产生骨骼发育障碍。

（4）有机溶剂：常见有苯、多氯联苯、二硫化碳、甲醛等。

①苯：苯及其同系物甲苯、二甲苯是工业上广泛应用的化学物质，挥发性强。苯、甲苯、二甲苯主要用作有机溶剂及化工原料。橡胶、油漆、喷漆、制药、合成纤维、染料和农药以及印刷业中均可接触苯。男性接触者的妻子自然流产率增高；女性接触者月经失调、自然流产、早产、死胎和生育低出生体重儿发生率增高。有报道孕妇接触苯，其子代发生急性淋巴细胞及非淋巴细胞白血病的危险性增高；苯能使孕妇贫血从而影响胎儿营养。

②多氯联苯：多氯联苯是一种耐酸、耐碱、难溶于水、易溶于脂肪和羟类溶剂的化合物。由于多氯联苯的化学稳定性好，污染环境后很难降解。多氯联苯抑制细胞生长，影响和干扰多种酶的活性，可导致胎儿发育迟缓、智力低下及死胎。多氯联苯通过胎盘屏障进入胎儿体内。在1968年日本发生的米糠油中毒事件（食用多氯联苯污染的米糠油）中，受害的13名孕妇分娩的13例新生儿中，2例流产、2例早产。新生儿表现为出生体重不足、皮肤色素沉着、严重氯痤疮、眼多分泌物、牙龈着色等症状，称为“油症儿”。动物实验发现，孕鼠的子代出生体重不足，学习能力紊乱；孕猴的子代出现类似“油症儿”表现。

③二硫化碳（CS_2）：二硫化碳是一种易挥发和易燃的化合物，几乎不溶于水，为油脂、橡胶、树脂、磷、硫等溶剂。动物实验表明，高浓度二硫化碳有致畸作用，主要表现为脑及肢体畸形。女性接触者及男性接触者的配偶自然流产率及后代先天性缺陷的发生率均显著高于对照组。其导致的先天性缺陷主要有腹股沟疝、先天性心脏病、骨关节畸形和中枢神经系统缺陷等。

④甲醛：甲醛易溶于水、醇和醚，被广泛用于农药、皮革、造纸、橡胶、制药和建筑材料等。动物实验表明，甲醛可诱发肿瘤，对内分泌及性腺具有特殊作用。有资料显示，女性职业暴露者出现月经紊乱、继发性不育、低体重胎儿等，先兆流产率、宫内窒息率和难产率高于对照组。

（5）大气污染：主要来源于工业、交通排放的废气，以及生活燃料燃烧的气体，主要成分有飘尘、SO_2、CO、氮氧化物、碳氢化物及重金属等。有资料显示，孕早期处于大气SO_2、总悬浮颗粒物（TSP）积值较高的季节，胎儿出生缺陷发生率高于SO_2、TSP积值较低的季节。有报道提示人胚绒毛组织染色体的数目和/或结构畸变与空气污染严重程度有关。SO_2日平均浓度与染色体异常发生率之间存在着剂量一效应关系，悬浮颗粒影响染色体结构畸变。孕妇CO中毒，胎儿可发生小头畸形、神经发育不全、四肢肌张力减退、痉挛等。

3. 药物与出生缺陷

几乎所有的药物都可以不同形式通过胎盘进入胎儿体内，但已确定对胎儿有致畸作用的药物不多，药物因素引起的出生缺陷只占5%～6%。药品的安全性与危险性是在一定条件下相对发生和发展的。致畸作用较强的药物受多种因素的影响，不一定孕妇用药后必然引起

先天性出生缺陷。药物对胎儿的影响取决于药物的理化特性、药物剂量、机体对药物的亲合性、用药时的胎龄（见表 9－2）和母体与胎儿的遗传素质等。目前已肯定对人类有致畸作用的药物见表 9－3。

表 9－2 孕早期药物致畸与胎龄的关系

胎龄（周）	药物致畸表现
3	心异位、脐疝、并腿畸形、短肢畸形
4	短肢畸形、脐膨出、气管食管瘘、脊柱裂
5	气管食管瘘、脊柱裂、白内障、颜面裂、腿短小
6	腿短小、腕或踝脱臼、白内障、唇裂、无下颌、先天性心脏病、主动脉异常
7	室间隔缺损、肺动脉狭窄、指脱臼、腭裂、小下颌、短头
8	先天性心脏病、短头、指（趾）发育不良、鼻骨发育不全

表 9－3 具有致畸作用的药物及其致畸表现

药物种类	药 物 名 称	临床表现
抗肿瘤药	甲氨蝶呤	无脑、脑膜膨出、脑积水、腭裂、低位耳、流产
	环磷酰胺	四肢及外耳缺损、唇裂、腭裂、发育迟缓、卵巢发育不全
	6 巯基嘌呤	脑积水、脑膜膨出、唇裂、腭裂
	白消安	多发畸形
激 素	己烯雌酚	女婴男性化、男婴女性化、女性阴道腺癌、男性尿道畸形
	黄体酮（孕酮）	女婴男性化
	睾酮（睾丸酮）	女婴男性化、阴蒂肥大、子宫阴道发育不全
	可的松	腭裂、无脑、心脏畸形、胸腺发育不全、免疫功能低下
抗生素	四环素	釉质及牙本质发育不全、骨发育不全
	链霉素	先天性耳聋、小鼻、多发性骨畸形
	卡那霉素	先天性耳聋
	庆大霉素	先天性耳聋
	氯霉素	肝损害、灰婴综合征、死胎
	长效磺胺	新生儿高胆红素血症
	利福平	诱发动物类脊柱裂、腭裂
抗寄生虫药	奎宁	脑积水、四肢缺陷、视网膜病变、耳聋、血小板减少、死胎
	氯喹	视网膜损害
解热镇痛药	阿司匹林	新生儿出血、发育迟缓
	非那西汀	高铁血红蛋白血症

续表9－3

药物种类	药物名称	临床表现
神经系统用药	甲丙氨酯（眠尔通）	唇裂、腭裂、发育迟缓
	氯氮䓬（利眠灵）	唇裂、腭裂、发育迟缓
	沙利度胺（反应停）	肢体严重缺陷，耳异常
	苯妥英钠	先天性心脏病、唇裂、腭裂、肢体短缩、肾畸形
	卡马西平	多发畸形
	扑痫酮	唇裂、腭裂、多指畸形
	三甲双酮	发育延迟、面部异常
	丙戊酸	神经管缺陷，面部异常
	锂	心血管系统畸形
	丙咪嗪	有致畸性
	阿米替林	有致畸性
	苯丙胺	心脏大血管畸形、脑积水、足或肢畸形、唇腭裂
抗凝血药	双香豆素	软骨发育不全、鼻缺陷、脑出血、胎盘早剥、死胎
抗甲状腺类药	丙硫氧嘧 啶甲巯咪唑 放射性碘	甲状腺功能减退、胎儿甲状腺肿
其　他	异维甲酸	流产、脑积水及其他中枢神经系统畸形、小胸腺或缺如、小耳或耳缺如、先天性心脏病

（1）药物可通过三种途径产生致畸作用：①直接作用，药物直接作用于胚胎形成过程，如甲氨蝶呤的抗叶酸作用直接作用于胚胎，抑制叶酸代谢，产生结构异常和流产。②间接作用，有些物质本身不致畸，但在母体内为致畸作用创造了条件。例如，尼古丁可引起子宫、胎盘血管收缩，引起子宫及胎盘灌流减少，影响胎儿的发育。③通过毒性反应或中间产物作用，有些药物是通过其毒性反应或中间代谢产物影响胎儿发育，如反应停就是通过其代谢产物引起胎儿畸形的。

（2）妊娠期药物的 FDA 分类：为了指导临床上合理用药，避免药物对胎儿的影响，美国食品和药物管理局（FDA）根据药物对胎儿造成的危害程度，提出 5 类妊娠用药分类法。

A 类：动物试验证实无危险；人群研究未证实对胎儿有危险性，可用于孕妇，如多种维生素。

B 类：动物试验证实有危险性，缺乏人群研究的证据；或动物试验结果无致畸证据，而人群研究尚不充分，孕妇应慎用，如青霉素。

C 类：动物试验证实存在对动物胎仔致畸危害，缺乏人群研究资料，但不能排除对人群的危害；或缺乏动物和人群研究证据，应用时应权衡利弊，必要时用于孕妇，如阿司匹林。

D 类：人群研究证实对胎儿有致畸危险。当孕妇生命垂危或疾病严重在无其他替代药物时，在充分权衡利弊后慎用于孕妇，如卡马西平。

X 类：人群和动物资料均证实有致畸作用，或者有肯定的人群致畸胎证据，致畸的危险性明显大于任何有益之处，孕妇禁用。

（3）妊娠期用药的一般原则：①孕妇患病应及时治疗，不可滥用，也不能因为担心药物致畸拒绝用药。有病不治对孕妇和胎儿带来的危害更大。②尽量选择对孕妇疾病疗效确切而对胎儿比较安全的药物。在已知某种药物可能对胎儿产生不良反应但孕妇的病情又必须用药的情况下，权衡利弊之后慎用。③药物对不同胎龄的胚胎影响不同，要充分考虑给药时间与胎龄的关系。对有怀孕可能的育龄妇女用药时，注意询问生育情况和月经情况。对孕妇用药时应考虑药物的致畸作用。④充分考虑用药剂量、疗程和给药途径。用量以最小有效剂量为原则，疗程以病情控制即停药或减量。尽量采用对胎儿影响较小的、安全的途径给药。

4. 农药与出生缺陷

农药可以通过胎盘屏障，到达胎儿体内，对发育中的胚胎或胎儿产生影响，造成遗传性或非遗传性损伤。有人认为，目前人类自发突变中 60%～70%是化学因素所致，而农药是化学因素中重要的物质之一，对人的影响常常自第二代甚至第三代时才开始出现。由于有些农药在体内有明显的蓄积效应，特别是当母体妊娠及哺乳时，农药在体内超过常量的聚集危害更大，往往农药及其代谢产物浓度尚未达到引起母体中毒的程度时，却已能出现特殊活性，对生殖功能产生影响，对发育中的胚胎或胎儿产生各种不良影响。

（1）有机磷：动物实验发现，含有机磷的敌百虫能引起动物胎仔骨骼缺陷及内脏畸形；甲基对硫磷导致动物受胎及繁殖能力下降，骨骼异常；马拉对硫磷引起肢体短缩。有机磷农药能引起人的神经系统功能紊乱，对生殖及发育有一定的影响，大剂量使用有机磷农药的妇女可能出现不孕、月经紊乱现象。有报告认为，孕妇接触有机磷农药可使胎儿肢体畸形。

（2）有机氯：动物实验发现，含有机氯农药五氯酚引起胎仔骨骼畸形、露脑、脐疝等，母体滴滴涕（DDT）浓度高，胎儿中窒息为对照组的 3 倍，出生缺陷的也较多，包括足内翻、先天性髋脱位、多指畸形等。

（3）其他：除草剂 2,4,5－T 和三氯酚、五氯酚及其生产过程中的副产物四氯二苯二噁英（TCDD）都有致畸作用，有人发现在 2,4,5－T 高散布区胎儿小头畸形、先天愚型、先天腭裂、脊柱裂、趾畸形等发生率高。

四、环境物理因素与优生

物理因素包括温度、湿度、气流、电离辐射、非电离辐射、温度、噪声等。已知有致畸作用的有电离辐射、噪声和高温。

1. 电离辐射

凡是能引起物质电离的辐射称为电离辐射。在电离辐射中常见的放射线有 α 射线、β 射线、γ 射线和 X 射线等。

人类生活的地球上，存在天然放射性核素。由于人类长期生活在这样一个有放射线的环境中，其生长、发育和繁衍后代，已经适应了这种自然环境。但随着工业的发展和科学进步，人类除受天然辐射的影响外，还受不同程度的人工辐射。生产和使用放射性核素的企业排出的放射性“三废”（废气、废液和固体废物）及核武器实验产生的放射性核素对人类生存构成严重的威胁。日益广泛使用的医用、工业用的 X 射线及封闭射线源（镭、钴）、放射性药物等，如果使用不当，会给人类带来一定的伤害。

细胞对放射线的敏感性与细胞的增殖活动能力成正比。即胚胎早期比胚胎晚期敏感，胚胎时期比出生后敏感。因此，胚胎细胞对放射线的敏感性较发育成熟的机体更强，往往母体未受到任何影响的剂量即能造成胚胎的器质性损伤。常见的效应有致死、致畸、发育障碍。

胚胎受放射线的影响程度取决于三个因素：①放射剂量；②受照射方式、射线种类；③受照射时胚胎发育的阶段。在妊娠头 2 个月受照射最易引发畸形，且畸形严重。其中，胚胎的中枢神经系统最易受损。由放射线照射引发的出生缺陷有：脑发育不全、颅骨发育不全、小头畸形、智力低下、耳及耳道异常、眼睑及虹膜异常、唇腭裂、先天性心脏病、大血管错位、消化道畸形、泌尿器官发育不全、四肢畸形、指（趾）异常等。

对人类影响最大的电离辐射是医源性放射源。X 射线、γ 射线和放射性药物被广泛用于疾病的诊断和治疗，这些技术的应用给人类带来益处的同时，也带来了极大的伤害。有资料显示，全世界放射性职业人员大约有 70%为医护人员。我国现有 67 000 多所医疗机构拥有 X 射线诊断机，采用 X 射线诊断已成为电离辐射源中最大的人工辐射因素。

为了避免对胎儿的影响，医生对育龄妇女进行 X 线检查前，应了解育龄妇女生育史；对孕妇进行 X 线检查，应严格掌握临床适应证，尽量采用非放射性影像学诊断方法代替 X 线检查。

2. 非电离辐射

不能使生物组织电离的辐射称为非电离辐射，包括紫外线、可见光、红外线、激光、射频辐射等。它们属于电磁辐射谱中特定波段的射线。炼钢炉前作业常接触红外线、紫外线。激光用于精密加工作业，如切割、激光电视、激光雷达、外科微创手术等。淬火、焊接、冶炼、塑料粘合、理疗和烹调等常利用射频辐射及微波的热能作用。

（1）射频辐射：目前，微波辐射对人的致畸作用尚不肯定。由于微波的穿透能力差，估计对人类的致畸作用比放射线弱。有研究发现，微波照射阴囊对睾丸有一定的影响，可使精子数减少，活动力降低，甚至可发生暂时性不育。职业性接触微波的人群中，男性的子代中先天愚型发病率高，女性妊娠后容易流产。1980 年美国全国健康调查中显示，低出生体重儿母亲接触微波的比例高于非低出生体重儿母亲，但无统计学差异。

（2）视屏作业：是对电子计算机视屏显示终端（VDT）操作人员的工作而言，简称 VDT 作业。视屏作业的职业危害因素是否对女工的健康产生不良影响，国内外报道尚不一致；与子代出生缺陷是否相关，研究结果也不一致。我国学者对1 528名 VDT 作业女工的调查发现，其月经异常及自然流产率高于对照组，且差异具有统计学意义。Ericson 等报道 VDT 作业与出生缺陷有关联；但 McDonald 等报道 VDT 作业女工自然流产和先天性畸形危险性未见增高趋势。

3. 噪声

凡是使人不愉快的或不需要的声音统称为噪声。不同程度的噪声可能引起妇女卵巢功能紊乱。长期处于噪声环境中的孕妇，通过神经反射能降低子宫胎盘血流量而影响胎儿的氧气和营养物供给。外界声音传入子宫内的衰减与频率有关，低频噪声衰减较差，因此环境中的噪声在不引起母体主观不适的情况下，即可能对胎儿已具有潜在危险性。有研究报道，母亲孕期接触噪声的水平与儿童听力损伤存在着明显的剂量－效应关系；孕期接触强噪声（100 dB以上）的织布车间女工，所生育子女的平均智商明显低于对照组。

4. 高温

调查显示，孕妇体温超过 38.5 ℃对胚胎发育有影响。尤其是在孕早期，高温会导致胎儿发生神经管关闭不全，引起神经管缺陷。

5. 机械因素

由于胎儿受母体腹壁、子宫和羊水的保护，外环境中机械因素一般不会损伤胎儿。但是

子宫内的某些机械因素可能会影响胎儿发育，导致先天畸形。妊娠早期，若胎膜破裂形成束状羊膜带或纤维环，可使胎儿生长时由于局部压迫、窄缩而引起畸形。例如，羊膜带或纤维环缠绕头部可形成面裂，缠绕于肢体可造成组织坏死以致肢体缺如（宫内切断），缠绕于指（趾）可以形成并指（趾）或短指（趾）等。各种原因引起的子宫腔狭小或多胎妊娠可导致胎儿全身生长受限，活动受限，各种压迫导致畸形或变形。胎儿的子宫内姿势也是引起畸形的原因之一。胎儿如在子宫内固定一个位置过久，容易引起软组织痉挛，导致畸形。臀先露者，由于压迫，可出现臀先露系列病，如斜颈、脊柱侧曲、畸形足等。

6. 振动

由于女性解剖生理上的特点，女性对全身振动极为敏感，尤其是不规则冲动性振动。全身振动可致盆腔内器官血液循环功能状态发生变化，使血管高度紧张或紧张度下降，导致静脉淤血或自主神经功能失调。当子宫静脉淤血或血液循环改变可影响胚胎的营养供给，造成宫内发育受阻。

五、食品、营养与优生

食品、营养是生命发生、存在和发展的必需物质。蛋白质、脂肪、糖类、维生素、无机盐和微量元素都是生长发育所必需的营养物质。营养不足，不仅妨碍胎儿正常发育，还可引起不同程度的器官畸形。有些物质摄取过量对机体是有害的。霉变食品和受污染食品对人体可能有致癌或致畸作用。应重视营养与优生的关系，重视食品污染对优生的影响。孕期充足的营养是保证胎儿健康发育的重要因素之一。

1. 孕前营养

要生育健康的孩子，父母在计划生育时注意补充营养是非常必要的。孕前充足的营养可以获得健康的精子和卵子，并为受孕创造良好的物质基础，以便健康的精子和卵子结合成为健康的胚胎。因此，孕前营养对胎儿健康有直接影响。妇女孕前体重儿与新生儿出生体重明显相关，低出生体重往往是由母亲孕前体重低或孕后体重增加少所致。过度消瘦的妇女容易发生不孕，即使怀孕，胎儿容易发生贫血、生长发育迟缓和早产。过度肥胖的妇女又可能增加妊娠困难，如妊高征、妊娠合并糖尿病和难产等。男性体内锌缺乏可引起精子数量减少，碘缺乏可降低性欲并影响睾酮的分泌，进而影响精子的形成。男性营养不良或过剩均可影响妻子受孕。因此，计划怀孕的夫妻均应做好孕前均衡营养的准备。

近年来，国内外研究成果表明，妇女怀孕早期体内缺乏叶酸是神经管缺陷发生的主要原因。胚胎神经管的发育关键期是受孕后 3～6 周，此期如果孕妇体内叶酸水平低，会影响神经管的正常闭合而发生畸形。为预防神经管缺陷儿出生，应从怀孕前 3 个月开始至怀孕头 3 个月补充叶酸。

2. 孕期营养

胎儿在子宫内生长发育，摄取营养的唯一途径是由母体供给。孕妇营养失衡（缺乏或过量）可直接影响胎儿。研究表明，各器官、系统发育迟缓导致的低出生体重儿、早产儿及后天体弱多病与孕期热能和蛋白质摄入不足有关；神经管缺陷与叶酸缺乏有关；骨骼发育异常与钙、锰缺乏有关；先天性心脏病与锌、铜、硒及叶酸缺乏有关。

（1）热能与蛋白质：热能来源于糖类、脂肪和蛋白质。孕期热能供给不足，将导致胎儿宫内发育迟缓。葡萄糖既是能源物质，又是核酸合成必需物。脂类既提供热能同时又是细胞的重要组成成分，如磷脂是脑及神经系统的重要成分，对脑的发育起重要作用。生殖细胞的

形成、前列腺素合成、乳汁成分等与必需脂肪酸密切相关。蛋白质对机体的作用更为重要，细胞膜、细胞器、细胞核等结构的主要成分是蛋白质，参与机体生理功能的酶、激素、抗体等都是蛋白质。蛋白质摄入不足会直接导致胎儿生长发育迟缓，尤其是脑发育的重要阶段（胎儿期 26 周至出生后 2 岁）蛋白质摄入不足可直接影响脑发育，导致智力低下。

孕期推荐热能供给量为 2 500 kJ/d，脂类供给量占总热能的 20%～25%。蛋白质推荐剂量：孕早期 70 g/d，孕中期 80 g/d，孕晚期 85 g/d。

（2）维生素：是维持机体正常生长和代谢功能所必需的，多数维生素在人体内不能合成，必须从食物中获取。

脂溶性维生素包括：①维生素 A：其主要功能为维持正常视力和上皮组织健康，促进生长发育、提高机体免疫力。维生素 A 缺乏或过多皆可导致胎儿异常。维生素 A 缺乏主要导致胎儿眼缺陷，其次是泌尿生殖道和心肺缺陷等。据报道，人类孕期维生素 A 缺乏，与胎儿发生小头畸形、无眼症有一定相关性。动物实验发现，维生素 A 过多，胎仔可发生露脑、唇裂、腭裂、眼畸形。人类孕期维生素 A 过多，胎儿发生无脑、小头、智力低下、心脏缺损及颜面异常，流产率增高。孕期推荐剂量：维生素 A 1.0 mg/d（3 300 u）。②维生素 D：其主要功能为促进钙、磷在肠道吸收，同时促进钙、磷在骨骼和牙齿中沉积。孕期维生素 D 缺乏可影响胎儿的骨骼和牙齿发育，生后易患龋齿。孕妇严重缺乏维生素 D 时，新生儿出现先天性佝偻病、低钙血症及釉质发育差。孕妇维生素 D 过量，可引起特发性婴儿高钙血症、骨质硬化，同时损害心脏、血管和肾脏。孕期推荐剂量：维生素 D 0.01 mg/d（400 u）。③维生素 E：其主要功能为维持正常生殖。动物实验发现，孕早期缺乏维生素 E，胎仔可发生露脑、脐疝、脊柱侧突、足和尾畸形。目前，尚无维生素 E 缺乏对人致畸的报道。维生素 E 过量可能无害。孕期推荐剂量：维生素 E 12 mg/d。

水溶性维生素：叶酸属于 B 维生素。叶酸对人类正常胚胎细胞分裂和生长发育十分重要。流行病学调查证实，孕妇缺乏叶酸，除可引起巨幼红细胞贫血外，更为严重的是导致胎儿神经管缺陷，尤其是在妊娠早期。另有一些研究发现，胎儿唇腭裂、先天性心脏病与叶酸缺乏有关。研究结果还显示，即使是营养状况良好的孕妇，体内叶酸水平也会下降，且叶酸水平随着妊娠的进程逐渐降低。推荐育龄妇女从怀孕前 3 个月起至怀孕头 3 个月补充叶酸 0.4 mg/d。已经生过一个神经管缺陷儿的妇女从怀孕前 3 个月起至怀孕头 3 个月补充叶酸 4 mg/d。大剂量叶酸会降低抗惊厥药物的作用，诱发癫痫；还可影响锌的吸收，导致胎儿宫内发育迟缓，低出生体重。

神经管缺陷是一组涉及胎儿大脑和/或脊髓的缺陷，其特征是脑组织和脊髓暴露在外，缺乏颅骨和/脊椎骨以及软组织的保护，表现为无脑畸形、脊柱裂和脑膨出，是引起婴儿死亡和残疾的最常见原因之一。

神经管缺陷是遗传因素和环境因素共同作用的结果。环境因素包括孕妇体内缺乏叶酸，孕期使用抗癫痫药物，孕期暴露于高温，孕妇患糖尿病、肥胖症。其中，孕妇体内缺乏叶酸是最重要的一个因素。正确增补叶酸，可以降低 50%～70%的神经管缺陷发生。

神经管缺陷是由于神经管关闭异常所致。受精后 16～30 天（末次月经后 30～44 天）是神经管形成和闭合的关键时期。也就是说，当孕妇发现自己怀孕时正好是神经管闭合的关键时期。为了预防胎儿神经管缺陷，推荐育龄妇女从怀孕前 3 个月开始直到怀孕头 3 个月增补叶酸制剂。

叶酸的来源主要有三种途径：富含叶酸的食物，包括绿叶蔬菜、柑橘、橙汁、豆类、干

果、肉类；含叶酸的强化食品；合成叶酸制剂，如叶酸片或含有叶酸的多种维生素。补充叶酸的最佳方式是服用叶酸制剂。

孕期缺乏维生素 B_1、维生素 B_2、维生素 C 等对胚胎发育产生一定不良影响，有一定的致畸性，可导致流产、早产、死胎等。孕期推荐剂量：维生素 B_1 1.8 mg/d，维生素 B_2 1.8 mg/d，维生素 C 80 mg/d。

（3）无机盐及微量元素：常见有钙、镁、钠、钾、锌、铁、锰等。

①钙：是构成骨骼和牙齿的重要成分，胎儿骨骼、牙齿的钙化在母体内即开始，胎儿骨骼、牙齿的钙化随着胎龄的增加而增大。孕妇轻度缺钙或短期缺钙对胎儿无明显影响，因为母体可以动用自身骨骼中的钙供给胎儿，孕妇可出现龋齿及骨质软化症，而胎儿骨骼发育可正常。如果母体严重或长期缺钙，则胎儿骨骼的钙化和生长发育就不能正常进行，易患佝偻病。钙量过高，对胎儿可能有不利影响。动物实验发现，动物血钙过高时每窝产仔数减少，且胎仔出生体重降低。推荐剂量：妊娠第 4～6 个月钙供给量为 800 mg/d，第 7～9 个月为 1 500 mg/d。

膳食中富含钙的食物以牛奶及奶制品最佳，且易于人体吸收，每半斤鲜奶可提供约 300 mg钙。虾皮、虾米、海带、紫菜等海产品以及黑木耳、黄豆及豆制品、芝麻酱含钙较高，小白菜、油菜、茴香菜等绿叶蔬菜也是钙的主要来源，但含草酸多的蔬菜如菠菜等由于在肠腔内与钙结合成不溶解的钙盐而影响钙的吸收。

②镁：为正常妊娠所必需的营养素。母鼠实验发现，如果整个孕期缺镁，胎仔全部被吸收并死亡；如果孕中期缺镁，则胎仔吸收仍可达 50%～90%，而存活的胎仔发生多种畸形，如唇裂、短舌、脑水肿、小颌、趾畸形和短尾等。尚无缺镁对人胚影响的资料报道。

③钠：动物实验观察，给孕鼠提供低钠饲料，胎仔存活率低，脑重量、脑胆固醇、脑蛋白质及 RNA 均低于正常喂养的鼠仔。

④钾：低钾可使人胚肾发育不全，有致畸作用。

⑤锌：锌参与细胞内核酸的合成，是体内多种酶的构成成分，对维持皮肤正常功能、维生素 A 的正常代谢及性器官的发育具有重要作用。动物实验和人体观察，妊娠期缺锌可导致先天性畸形。人群流行病学调查资料显示，在世界缺锌地区，新生儿中枢神经系统缺陷的发生率高；低锌母亲所生婴儿中先天性心脏病、骨骼畸形、隐睾、尿道下裂等畸形发生率也高。孕期推荐剂量：锌供给量为 20 mg/d。

⑥铁：参与红细胞血红蛋白形成，是人体不可缺少的物质。孕妇缺铁，易发生小细胞低色素性贫血。妊娠后期，胎儿将在体内贮存铁，加上出生后红细胞破坏释放的铁，足够生后 3～4 个月生长需要。如果母亲轻度缺铁，胎儿一般不受影响或使胎儿体内铁贮存量减少；母亲严重缺铁，婴儿出生即可出现贫血、抵抗力低、易感染、生长发育迟缓。孕期推荐供应量：铁供给量为孕早期 15 mg/d，孕中期 25 mg/d，孕晚期 35 mg/d。

⑦锰：是人体必需微量元素。动物实验表明，孕鼠锰缺乏可引起鼠仔先天性异常，包括骨骼异常、新生儿共济失调、脑功能异常。对人体的研究发现，锰与异常神经活动有关，患有惊厥性紊乱的儿童中约 1/3 缺锰；癫痫儿童的母亲血锰水平也低。

⑧碘：是人体必需微量元素。孕期碘摄入过少将对胎儿产生严重的影响，发生地方性克汀病。胎盘对某些物质有屏障作用，但对碘没有屏障作用。孕期碘摄入过量，可引起胎儿高碘性甲状腺功能紊乱。孕期推荐：碘供应量为 0.175 mg/d。

六、食品卫生与优生

食品在生产加工、贮存运输和销售过程中常受到多方面的污染。就其污染的性质分为生物性、化学性和放射性三类。其中化学性污染的范围最广，如工业“三废”不合理排放，农药残留于食品等。

1. 真菌毒素

（1）黄曲霉素 B_1：是黄曲霉素菌和寄生曲霉菌中产毒菌株的代谢产物，致癌性极强。黄曲霉素 B_1 污染的主要食物有花生、玉米、小麦、稻谷、棉籽等。黄曲霉素 B_1 有致畸性，对胎儿的影响包括：引起地鼠畸形，如无脑、小脑、心异位、唇裂、脐疝；生长延迟；肝出血、坏死及变性等。

（2）红色青霉毒素 B：由红色青霉及产紫青霉菌产生。红色青霉毒素 B 污染的主要食物有谷物、豆类、花生、玉米类等。其毒性较大，在动物实验中能诱发畸形，主要畸形为露脑、耳或颌异常、脐疝、无眼、趾畸形、短尾等。

2. N－亚硝基类化合物

N－亚硝基类化合物是指含＝N－NO 基的化合物，致癌性强，可分为亚硝胺类、亚硝酰胺类、亚硝眯类、亚硝基脲类。其主要存在于熏鱼、腌肉、酸菜、啤酒及发酵食品。N－亚硝基类化合物可通过动物胎盘。引起子代各种畸形的主要是甲基亚硝基脲及乙基亚硝基脲。动物实验发现，在妊娠初期染毒可使胎仔中毒死亡；在中期染毒可使胎仔发生畸形，如脑畸形、脑积水和四肢畸形；在孕晚期染毒可使胎仔发生肿瘤。

3. 咖啡因

动物实验观察咖啡因有致畸作用。其能诱发鼠仔畸形、水肿和低出生体重，主要畸形有腭裂、足畸形、露脑、脊柱裂、无下颌等。尚无证据表明其对人类具有致畸作用。但大剂量咖啡因（大于 300 mg/d）可导致新生儿低出生体重。

七、胎教与优生

有关胎教对优生尤其对智力、行为和心理发育的作用目前已得到肯定，并且已被越来越多的人所接受。在一定程度上，适时、适宜的胎教对胎儿的发育无异于精神上的营养。人们经研究发现，胎儿大约在 6 个月时，神经系统已发育到相当程度。科学家用腹袋仪器对孕妇测验证明，环境的声音、光线的刺激以及母亲的情绪都能引起胎儿的反应。母亲如进入声、光柔和的房间，胎儿十分安静，表示适应；如进入噪声和阴冷的地方，胎儿则会用激烈的胎动来表示厌恶和不满；刚生下的孩子哭闹不安，如把他的耳朵贴在母亲的心脏位置，孩子就会安静下来。这是因为婴儿在子宫内听惯了母亲的心音，通过条件反射而带来的安慰。

近年兴起的胎儿医学测试证实胎儿已具有逃避反射、吸吮反射、刺激性呼吸反射等动作。因此，科学家认为“胎教”是有科学根据的。国外也非常重视胎教。美国和澳大利亚等国家还创办了胎教学校，专门对孕妇进行胎教指导。

胎教有音乐胎教法，抚摩动作训练法，精神营养法。

1. 音乐胎教法

目前国内外已普遍采用音乐胎教法。胎教音乐有两种：一种供孕妇欣赏，它以宁静为原则，轻松、恬静，既使人感到悦耳动听，又使人产生美好的联想，通过神经体液，将这种感受由母体传递给胎儿；另一种给胎儿听的（将耳机放在孕妇腹部），轻松活泼、节奏明快的

音乐，可激发胎儿对声波的良好反应，并能助长胎儿听觉神经和大脑功能的发育。据报道，美国休斯敦有名叫大卫的神童，9岁时就开始攻读汤玛士大学，据说他母亲怀孕4个月时就经常听贝多芬的乐曲。澳大利亚一家医院曾进行胎教追踪试验，35名孕妇在妊娠期间每天欣赏优美的轻音乐，结果她们的子女中有7人成了音乐家，2人成为优秀的舞蹈演员，其余的孩子智力也普遍高于一般水平，并且有良好的音乐感。追踪结果表明，受过胎教的孩子，明显地比没有受过这项教育的孩子成绩更好、更聪明可爱。

2. 抚摩动作训练法

抚摩动作训练法是通过系统地对胎儿讲话，适当地拍打和抚摩腹部的一定部位的训练，来激发胎儿活动的积极性。胎儿受到母亲双手轻轻的抚摩后会轻轻蠕动，这是对母亲爱抚的反应。4个月以后的胎儿均可接受此教育。但有习惯性流产史、早产史及早期宫缩者不宜采用这种方法。经过这样训练的胎儿出生后站立、行走都是比未训练的胎儿早得多。

3. 精神营养法

科学研究表明，父母的精神生活将对胎儿产生潜移默化的影响。父母有良好的心理、品德和艺术修养，对胎儿也是健康有益的精神营养。夫妻要共同追求文明、高尚、恬静、愉快的精神享受，增进修养，陶冶情操，这无疑也会为胎儿生长发育奠定一个好的基础。

八、影响优生的其他因素

1. 妊娠合并糖尿病

资料显示，糖尿病孕妇所生先天性畸形儿发生率比正常群体高6倍，主要是心血管、中枢神经、胃肠、骨骼等异常；同时，围产儿死亡率高，容易出现巨大儿（增加分娩的困难），新生儿呼吸窘迫综合征，新生儿低糖血症。

2. 妊娠合并甲状腺功能低下

妊娠合并甲状腺功能低下母亲所生新生儿可出现暂时性或持续性甲状腺功能亢进。前者病情轻，预后好；后者病情持久，出现骨龄早熟、颅骨过早闭合、智力低下、身材矮小及Graves肢端症，预后差。

3. 双亲年龄对胎儿的影响

妊娠母亲年龄大于35岁，畸形儿为对照组（24～29岁）的4倍；父亲年龄大于40岁，畸形儿为对照组的3倍。

4. 孕妇不良嗜好对胎儿的影响

（1）吸烟与妊娠：不论孕妇主动还是被动吸烟，对胎儿都会产生危害。孕妇吸烟对胎儿不良影响的多种机制中，慢性CO中毒是胎儿毒性的主要原因。CO易于通过胎盘进入胎儿血液，与血红蛋白形成的碳氧血红蛋白（HbCO）导致胎儿组织慢性缺氧，阻碍胎儿发育。烟草中的尼古丁具有血管收缩作用，引起子宫及胎盘灌流减少，导致胎儿发育不良。烟草中的铅有神经毒性，可伤害胎儿脑组织发育。总之，孕妇吸烟的不良后果包括流产、早产、宫内发育迟缓、低出生体重、智力低下、先天性畸形、死亡等。调查显示，每天吸烟低于10支的孕妇，其胎儿出现异常的危险性比不吸烟者增加10%；每天吸烟超过30支的孕妇，危险性提高90%。

（2）酗酒与妊娠：乙醇（酒精）分子量小，脂溶性高，可以迅速进入胚胎。由于胎儿肝功能不健全，对乙醇的分解代谢差，孕妇饮酒几个小时后，母亲血液中乙醇浓度下降，而胎儿血液中乙醇浓度仍保持较高水平。乙醇是一种致畸物，作用机制可能为乙醇及其代谢物直

接损害细胞或蛋白质合成导致生长迟缓，也可能干扰胎儿代谢和内分泌以及氨基酸的胎盘转运，抑制脑细胞分化，降低脑的重量。孕妇饮用酒精饮料后会导致胎儿在身体结构、神经发育、行为认知和精神健康等方面的损害，引起胎儿酒精系列疾病（FASD）。其中，胎儿酒精综合征（FAS）是胎儿酒精系列疾病中最严重的疾病，是母亲在妊娠期间酗酒对胎儿所造成的永久性出生缺陷。其主要表现为特殊面容（眼睑短、小眼、眼距宽）、智力低下、精神运动及语言发育障碍，心血管畸形、肢体畸形等。部分婴儿在出生时没有异常表现，但是随着年龄增长，会出现认知能力、学习、心理、行为等方面的异常或障碍。

由于个体及种族差异，妇女对酒精的代谢能力差异很大，妊娠期安全酒精摄取量是零。所有待孕的育龄妇女及孕妇杜绝一切酒精饮料，包括白酒、红酒、啤酒和含有酒精的饮品。

（3）药物成瘾与妊娠：造成成瘾的药品有鸦片类、可卡因类、大麻类、合成麻醉类等。吗啡和海洛因可引起胎儿成瘾，对胎儿生长有严重的抑制作用。

思考题

1. 环境中有害因素对人类的遗传物质是怎样影响的？
2. 环境中常见的致癌物质有哪些？
3. 简述环境有害物质与人类畸胎发生的关系。
4. 为什么我们不提倡吸烟、酗酒？
5. 环境中有害物质对优生是怎样影响的？
6. 为什么卵受精后第3～8周是致畸敏感期？
7. 预防胎儿神经管缺陷，正常育龄妇女怎样增补叶酸？

（丁显平　李科生　魏霞）

第十章 实现优生的重要途径——出生缺陷干预

第一节 我国出生缺陷的现状

一、出生缺陷的定义

出生缺陷（birth defects）是指新生儿出生时即存在的各种形态和结构的异常，可以涉及某一脏器或脏器的一部分，也可以涉及身体的较大区域；可以是某一部位的异常，也可以是多部位的异常。根据 WHO 对出生缺陷的定义，出生缺陷是指胚胎或胎儿在发育过程中发生结构、功能、代谢或行为异常的一类疾病。异常可以来自孟德尔方式遗传，也可以是新的基因突变或任何染色体的异常，同样也可以来自化学、物理和生物因素等环境因素的作用。

按医学分类标准，可将出生缺陷分为变形缺陷、裂解缺陷、发育不良、畸形缺陷四种类型。其中畸形缺陷是最常见、最严重的出生缺陷。出生缺陷与先天畸形的概念往往混淆。先天畸形主要是指胎儿发生身体结构的异常，既有明显的异常，也有细微的异常。这类先天畸形往往在出生前后不久就能被发现，相对来说诊断较为容易，是目前许多国家或地区出生缺陷监测的最主要内容，如神经管缺陷、唇腭裂、多指等。出生缺陷的范围比先天畸形更加广泛。关于出生缺陷是否包括流产儿、死胎、低出生体重、早产儿等，各国不一，最近在美国的出生缺陷研究论坛中，又出现了“儿童孤独症”的研究文章，这是否意味着出生缺陷研究领域的延伸，还有待于研究。

影响人口质量的出生还应该包括亚健康出生。正常出生的新生儿应该有约 40 周（280 天）的孕期，身长、体重、体围、骨骼、神经、精神、运动等都应该符合新生儿生长发育的标准范围。同时，新生儿不应该有任何并发证。亚健康出生是指出生的新生儿不能处在健康状态，如早产、窒息、过期产、低体重（小于2 500 g）、新生儿疾病、性传播性感染、免疫缺陷等。这种状态的新生儿的预后，受到多方面因素的影响，可能是健康的，也可能是不健康的。亚健康出生的人口可能会有一系列的生存障碍问题，例如，低体重和未成熟的新生儿，其患病率和死亡率均较高；在成长过程中，体格和智能发育常常差于正常成熟的新生儿的发育，失能和残疾也是十分常见的。由于出生缺陷儿的死亡和出生，对孕产妇的生理和心理方面都有不同程度的影响，特别是对她们的再孕、再分娩和哺育过程有较明显的影响。这部分人群的再生育问题值得关注。

二、我国出生缺陷发生现状

我国出生缺陷监测工作开始于1986年，来自全国的945所医院参加了这项调查。1996年全国出生缺陷监测网与全国5岁以下儿童监测网和全国孕产妇死亡监测网一起调查，全国约有500所医院参加监测工作，从而获得了全国出生缺陷监测连续动态的监测数据，为我国妇幼卫生决策提供了科学依据。

我国出生缺陷监测中心1996—2007年全国住院分娩监测的出生缺陷结果显示：

（1）全国出生缺陷总发生率呈现逐年上升趋势，由1996年的87.67/万上升到147.94/万。

（2）高龄产妇（≥35岁）的比例逐年增加，由1996年的3.0%上升到2007年的7.93%，比例已经达到发达国家的5%～9%。这个趋势提示对产前诊断的需求大为增加，同时也提示有必要加强对这部分人群的产前保健工作。特别是高龄产妇的胎儿出生缺陷发生率明显高于其他年龄段，这个问题值得重视。

（3）神经管缺陷发生率在全球各国的排名从1996年的第二位（发生率为13.60/万）下降到2007年的第四位（发生率为7.20/万）。我国神经管缺陷呈持续下降趋势，说明这些年开展的出生缺陷干预工作已经初见成效。

（4）先天性心脏病发生率在全球各国的排名从1996年的第五位（发生率为6.20/万）上升到2007年的第一位（发生率为25.09/万）。提示城乡各监测医院对该畸形的诊断能力有较大的提高，也不排除病因学因素的影响。

（5）尿道下裂发生率呈现逐年上升趋势。从1996年的3.10/万上升为2007年的6.01/万，提示发生率的增加不但与诊断水平提高有关，可能还与环境类激素的污染有关。

三、出生缺陷的危害

出生缺陷的危害是众所周知的。出生缺陷常常导致胎儿死亡、婴儿早期死亡、流产、低体重等，存活的患儿也常因为出生缺陷而导致生活质量受到严重影响。

据估计，我国出生缺陷总发生率约为4%～6%。若按每年我国新出生2 000万人口计算，我国每年将新增加80～120万例出生缺陷患儿，即每天将有2 800个患儿出生，其数量是全世界之首。而美国每年大约出生15万例出生缺陷患儿。据估计，我国目前大约有60万以上的唐氏综合征患者，每年出生唐氏综合征患儿2.5万。因此，我国出生缺陷的形势是非常严峻的。据估计，照发达国家每出生一例唐氏综合征患儿要增加360万元的经济负担计算，我国每年出生的约2.5万例唐氏综合征患儿将给国家带来的经济负担为80多个亿，而这仅仅是其中的一个常见出生缺陷。据专家估计，我国因先天性心脏病所引起的经济负担达130个亿，唐氏综合征为20个亿，神经管缺陷为2个亿。而在我国现行的国情和社会保障体制下，出生缺陷给家庭和社会所带来的经济负担严重地制约我国社会的发展和国民健康的提高。

国际有关经验表明，当一个国家或地区婴儿死亡率降到40‰左右时，出生缺陷便凸显为一个重要的公共卫生问题。这种情况在发达国家出现在20世纪60年代，在我国出现在20世纪90年代。随着我国社会和经济的改革，综合实力不断提升，医疗水平和自我保健水平也随之发生改变，导致婴儿死亡的疾病谱也在发生相应的改变，逐渐与发达国家接近。传染性疾病逐渐得到控制，婴儿因患传染性疾病死亡降低到很低水平，感染性疾病也随着农村医疗环境的改善而逐渐得到控制。因而出生缺陷已经成为婴儿死亡的最主要死因。1998年

美国婴儿死亡率为7.2‰，其中出生缺陷占婴儿死亡原因的22.0%，位居死因的第一位。我国2002年婴儿死亡率为29.2‰，其中先天异常所占比例为16.5%，虽然占第三位，但比例逐年上升。特别是我国发达省份以及发达地区，出生缺陷已经占到死因的第一位。

目前国际社会公认，婴儿死亡率是反映社会进步、国民健康的三大指标中的一个重要指标。因此，我国要全面实现小康社会，最为重要的任务就是要减少出生缺陷的发生，降低婴儿死亡率。

第二节 出生缺陷干预

出生人口质量是人口素质的重要基础之一，是人才储备、参与未来国际竞争的基础。我国政府十分重视出生缺陷干预工作。国家人口计生委自1999年开始，在全国范围启动了“出生缺陷干预工程”试点工作。2000年以来，科技部全方位启动了预防出生缺陷基础研究和应用研究，形成了生物学、遗传学、围产医学、妇产科、儿科等多学科协作，计生、卫生、民政等多部门合作的出生缺陷干预体系。2002年，卫生部与中国残疾人联合会又颁布了《中国提高出生人口素质、减少出生缺陷和残疾行动计划（2002—2010年）》。这一系列政策、规划和行动计划的相继制定和出台标志着我国出生缺陷干预进入了一个新的阶段。

一、出生缺陷发生的原因

导致出生缺陷的原因是遗传因素、环境因素或两者的相互作用。据2006年美国发布的《全球出生缺陷报告》中提出，由遗传因素引起的出生缺陷占40%，环境因素占5%～10%，遗传和环境因素相互作用或原因不明占50%。出生缺陷不仅受到个人层次上直接因素的影响，还受到家庭、社区和社会层次上间接因素的影响，诸如育龄夫妇和家庭的社会经济地位、健康生育的知识、信念和态度、生殖健康服务体系的服务能力、服务质量等，这些因素有时甚至起着决定性的作用。

二、出生缺陷干预的基本目标和基本策略

出生缺陷干预有三个基本目标：一是降低出生缺陷的发生率，二是降低出生缺陷儿的出生率，三是改善出生缺陷儿的生活质量。

世界卫生组织（WHO）提出了出生缺陷三级预防策略：一级预防是指怀孕前的健康教育和指导，预防出生缺陷的发生，包括婚前检查、遗传咨询、适龄生育、孕前期保健，还包括合理营养、预防感染、谨慎用药、戒烟戒酒、避免接触放射线和有毒有害物质、避免接触高温环境等；二级预防是指在怀孕期间进行产前筛查和产前诊断，采取必要的干预，减少出生缺陷儿的出生；三级预防是对新生儿进行早期筛查，对出生缺陷儿早期治疗，减少残疾程度，提高患儿生活质量。

出生缺陷三级预防策略中，一级预防最为积极主动、经济安全。2007年，国家人口计生委在全国范围内启动出生缺陷一级干预，提出了宣传倡导、健康促进、优生咨询、高危人群指导、孕前实验室筛查和营养素补充等措施。

第三节　遗传咨询

遗传咨询（genetic counseling）又称为遗传商谈，是指遗传病患者或亲属向遗传咨询医师询问有关遗传病的问题，医生根据询问的有关家族发病情况及检查结果来回答询问者疾病的病因、遗传方式、诊断、预防、治疗、预后等问题，估计亲属或再生育时该病的再发风险（率）或患病风险，并提出防治方案及婚育指导意见，供咨询者作决策参考。

遗传优生咨询是指有生育要求的人进行的与生育有关的遗传咨询。咨询者希望通过咨询了解本人或家族亲友中某种疾病是否是遗传病，如果是遗传病，疾病在亲友中如何传递，生育子女的发病风险为多大；如果是遗传病携带者，子女的发病风险为多大；不孕不育或习惯性流产的原因；接触的环境因素对生育子女的影响等。咨询医生帮助咨询者理解疾病的遗传性质、治疗、预后及再发风险，提出合理的建议供咨询者参考，选择最适宜的生育措施，规避子女发病风险；帮助咨询者了解环境因素对生殖功能、胚胎发育的影响，对咨询者提供预防措施，减少对后代的影响；帮助遗传病患者、遗传病高危家庭成员对遗传病的再发风险有所认识和接受，并接受婚育指导。这样，可以防止或减少遗传病患儿的发生和出生，达到优生的目的。因此，遗传咨询是优生工作的重要环节。

一、遗传咨询的对象及内容

（一）遗传咨询的对象

（1）有某种已确认的遗传病家族史夫妻。

（2）原因不明的不育不孕夫妻。

（3）有不明原因的习惯性流产、死胎、死产的夫妻。

（4）已生过一个畸形儿的夫妻及亲属。

（5）原发性闭经的患者及亲属或不明原因的继发性闭经者。

（6）性器官发育异常者及亲属。

（7）孕期有致畸因素接触史者（如电离辐射、放射线、农药，以及病毒感染尤其是TORCH感染等）。

（8）智力低下患者及亲属。

（9）生育过母儿血型不合引起核黄疸致新生儿死亡者。

（10）近亲婚配者及近亲结婚的后代。

（二）遗传咨询的内容

1. 婚前咨询

婚前咨询的内容包括：男女双方中一方或亲友中有某种遗传病患者，能否结婚，后代是否患病；男女双方有一定亲属关系，是否属于禁止结婚的范围；如果不在婚姻法规定的禁止范围，婚育对后代的不利影响等。

2. 生育咨询

生育咨询的范围包括：夫妻双方之一或亲友中有某种遗传病患者，生育患儿的风险；曾

经生育过遗传病患儿，或生育过智能低下或残疾儿，再生育患儿的风险；遗传病携带者如何生育；产前筛查发现胎儿异常风险性增高，如何处理；产前诊断确诊胎儿异常如何抉择；习惯性流产者是否有必要保胎；双方有致畸因子接触史是否会影响胎儿等。

3. 一般咨询

一般咨询是指针对遗传学中的一般问题进行咨询。如本人或者亲属所患的疾病是否是遗传病，是否累及后代；某些畸形是否与遗传有关；已经诊断的遗传病如何治疗等。

4. 社会咨询

咨询者为卫生、人口与计生和司法等行政部门，在制定和执行有关优生政策时给予遗传性指导，解答与遗传病有关的法律纠纷，帮助计划生育部门审批再生育指标等。

二、遗传咨询遵循的原则

遗传咨询时应遵循如下原则：正确诊断；非指令性咨询；关心个人；告知真相；守密和信任；无伤害性原则；夫妇同时参加遗传咨询；遗传咨询的时间；建立并保持联系。

三、遗传咨询程序

1. 家系资料的搜集

对于前来咨询的人员，咨询医师的第一步工作是调查家族发病情况，包括有关成员的年龄、性别、婚配及发病情况等，已故成员要问明病史及死因。可采用家族法——指咨询医师对先症者及有关家系成员逐个见面，或家族史法——指通过先症者及亲属中的知情者来了解家庭成员情况。要确保资料的完整和可靠，在家系资料搜集齐全后，根据家族成员发病情况绘制出系谱图。

2. 确定诊断

以现症患者（正在发病的患者）为例：

（1）询问病史，包括起病时间、主要临床表现、疾病进展情况、家族史、生育史等。

（2）体格检查，包括：①全身一般情况：身高、体重、智力与同龄儿童比较。②头面颈部：头大小、眼距、眼裂、巩膜、耳位，鼻梁、鼻根情况，是否是巨舌、唇裂、腭裂、小颌。下颌突出者在各种遗传病中常见。③胸腹部：在抗维生素 D 佝偻病和一些骨骼发育不全的遗传病中可见鸡胸、漏斗胸、横膈突出等；腹部常见体征有脐疝、腹股沟疝、十二指肠闭锁。④四肢：短指、多指（趾）、并指多见于 AD；摇椅底样足底是 18 三体征的特殊体征；此外，髋关节脱位，肘内、外翻等多见于多基因遗传病。⑤生殖器和肛门：生殖器发育不全、隐睾、尿道上裂、尿道下裂，可见于性染色体病；肛门闭锁为多基因病。

（3）特殊的辅助检查和实验室检查。医师通过询问病史和体格检查，对疾病作出初步判断后，进行必要的检查，包括染色体检查、生物化学检查与基因诊断、皮纹检查及辅助性器械检查等，明确诊断是否为遗传病。

3. 遗传方式的确定

多数遗传病的遗传方式是已知的，明确诊断后随之了解遗传方式。但在分析遗传方式时应注意，有些遗传病存在不同的遗传方式，有些遗传病存在遗传异质性，有些疾病是基因突变所致。因此，在确定遗传方式时应结合咨询者家系图综合分析。

4. 再发风险估计

再发风险估计是指对遗传病患者家庭中相关成员（子女、同胞等）发病风险的估计。咨

询者关心的中心问题是未来再生育或个体患病的风险。有时咨询师可以通过分析系谱，了解遗传病类型及个体与先症者的关系，做出风险估计。在进行分析时，注意参考其他因素（如群体中携带率、家系中易患病或未患病个体的人数、咨询者的年龄等）。携带者可以通过其他家庭成员的健康状况而得出。对先天畸形风险的评估，应首先了解有关致突变或致畸物质接触时间，然后查相应的经验风险数据。

5. 对婚育的指导意见及疾病的防治措施

咨询者及家人需要了解实验室的结果及其意义。咨询师应该告知的内容包括：疾病的诊断、遗传方式、个体发病风险及再发风险，可以采取的对策，这些对策的优劣及其对个体及家庭的意义，遗传病治疗和预防的情况等。按再发风险率可将再发风险分为三类：大于10%为高风险，5%～10%为中度风险，5%及以下为低风险。家族中如有严重的遗传病且其子代再发风险等于或大于10%时，通常建议其不生育；如已生育过一个严重遗传病患儿的，应劝其不要再生育；某些可作产前诊断的遗传病（如一些染色体异常、性连锁疾病或基因病），可采取产前诊断，酌情考虑“选择性流产”来达到控制患儿出生的目的；对于有明显严重遗传病家族遗传倾向的拟结婚的男女，应给予必要的婚姻指导；禁止近亲结婚。

四、遗传性疾病的再发风险估计

（一）染色体病

染色体病绝大多数由亲代的生殖细胞染色体畸变所致，极少数由父母一方染色体平衡易位携带者所致。再发风险估计应根据患者及其父母的染色体检查结果来分析。

（1）夫妻双方染色体正常，已经生育一个染色体数量异常患儿（如21－三体综合征），其再生育子女的发病风险一般等于群体发病率，但孕妇年龄越大，生育风险越高。

（2）夫妻双方之一为同源染色体罗伯逊易位、相互易位和插入易位携带者，子女均患病。

（3）夫妻双方之一为非同源染色体罗伯逊易位、相互易位和插入易位携带者，子女中1/4为部分三体、1/4为部分单体、1/4为携带者、1/4为正常。

（4）夫妻双方之一染色体倒位携带者，子女中1/4为部分缺失、1/4为部分重复、1/4为携带者、1/4为正常。

（二）单基因遗传病

对于单基因遗传病再发风险估计要确定疾病的遗传方式，确定每个相关成员的基因型。有些疾病有遗传异性，分析家系时，根据家系情况初步确定其遗传方式。

对已知双亲基因型的单基因遗传病可以采用孟德尔遗传规律计算再发风险率。对未知双亲之一或双亲基因型的单基因遗传病，则利用Bayes分析方法计算再发风险率。

下面仅根据孟德尔遗传规律计算再发风险率。

1. 常染色体完全外显遗传病

（1）双亲中一方正常，另一方为纯合子患者，子女患病风险为100%。

（2）双亲中一方正常，另一方为杂合子患者，子女患病风险为1/2。

（3）双亲均为杂合子患者，子女患病风险为3/4。

（4）男女发病机会均等；未发病的子女，其后代通常不发病。双亲均正常，子女发病，一般为基因突变所致。

2. 常染色体隐性遗传病

（1）双亲都是致病基因携带者，生育的子女患病风险为 1/4，致病基因携带风险为 2/3。

（2）双亲中一方正常，另一方为致病基因携带者，子女患病风险为 0，致病基因携带风险为 1/2。

（3）双亲中一方正常，另一方为患者，子女患病风险为 0，致病基因携带风险为 100%。

（4）双亲中一方为致病基因携带者，另一方为患者，子女患病风险为 1/2，致病基因携带风险为 1/2。

（5）双亲均为患者，子女患病风险为 100%（排除遗传异质性）。

（6）男女发病机会均等。近亲结婚发病风险显著增高。

3. X－连锁显性遗传病再发风险估计

（1）父亲患病，母亲正常，其女儿患病风险为 100%，儿子均正常。

（2）父亲患病，母亲为杂合子患者，其女儿患病风险为 100%，儿子患病风险为 1/2。

（3）父亲正常，母亲为杂合子患者，其女儿、儿子患病风险均为 1/2。

（4）父亲正常，母亲为纯合子患者，其女儿、儿子患病风险均为 100%。

4. X 连锁隐性遗传病再发风险估计

（1）父亲患病，母亲正常，其女儿致病基因携带风险为 100%，儿子均正常。

（2）父亲患病，母亲为致病基因携带者，其女儿、儿子患病风险均为 1/2。

（3）父亲正常，母亲为致病基因携带者，其女儿致病基因携带风险为 1/2，儿子患病风险为 1/2。

（4）父亲正常，母亲为患者，其女儿致病基因携带风险为 100%，儿子患病风险为 100%。

（三）多基因遗传病再发风险

多基因遗传病有一定的遗传基础，且往往有家族聚集倾向，但是他们的遗传方式不是取决于一对基因，而是几对基因或环境因素共同作用的结果，因而在这些遗传特征中往往出现累积效应，同一家族中与一般的群体相比有较高的再发率。

多基因遗传受环境因素的影响较大，用遗传率表示遗传因素和环境因素的相互作用的情况，以%表示之。如果遗传率小，则表示遗传因素作用少，而主要是环境因素在起作用，当遗传率为零时，则遗传因素不起作用。反之，如果遗传率大，则表示主要是遗传因素在起作用。当遗传率大于 60%时，则一般认为该病的遗传作用大，否则认为小。围产期中常见的多基因遗传病的遗传率分别如下：唇裂+腭裂为 76%，先天性幽门狭窄为 75%，脊柱裂和无脑儿为 60%，先天性心脏病为 35%。其他的一些多基因病遗传率，如哮喘为 80%，早期糖尿病为 75%（晚期 35%），胃溃疡为 37%等。

对于多基因病再发风险的估计，一级亲属发病率为群体发病率的平方根。如果某种疾病在群体中的发病率为 1/2 500，则这种疾病患者的一级亲属发病率为 1/50。如果已生过一个多基因病患者，则再生患儿风险增大。散发病例的再发风险较难估计，属于多基因病的，可按人群发病率估计。

（四）近亲结婚对遗传性疾病影响

近亲结婚是指三代以内有共同祖先的男女之间通婚。由于夫妻双方有血缘关系，故有共同特定基因的概率高于非近亲结婚者。近亲结婚增加夫妻双方相同的有害隐性基因在下一代出现纯合致病的几率。常染色体隐性遗传病患者及亲友近亲结婚再发风险率显著增高。因

此，我国婚姻法规定直系血亲和三代以内旁系血亲禁止结婚。

五、遗传性疾病患儿父母再生育原则

（一）常染色体显性遗传病

指导原则：患儿双亲之一若是杂合子患者，每胎子女的再发风险为50%；若是纯合子患者，每胎子女的再发风险为100%。对无可靠产前诊断方法的疾病，不宜再生育。双亲正常，家系调查排除遗传病家族史，可能为基因突变，再发风险低，可考虑再生育，但应对胎儿进行产前诊断。

（二）常染色体隐性遗传病

指导原则：患儿双亲表型正常，则都是携带者，每胎子女再发风险为25%；患儿双亲之一是患者，则另一方是携带者，每胎子女再发风险为50%。对无可靠产前诊断方法者，不宜再生育；对新生儿可以防治的疾病，能早期筛查和诊断治疗的疾病，可以再生育；无法早期筛查和诊断治疗的疾病，不宜再生育。

（三）X－连锁隐性遗传病

指导原则：凡可产前诊断的疾病都可限性生育；目前无法进行产前诊断疾病，应根据疾病严重程度确定是否生育。父亲患病，母亲正常，女胎均携带，男胎均正常，但女儿将来生育时应进行产前诊断；父亲正常，母亲患病，女胎均携带，男胎均患病，不宜生育；父亲正常，母亲携带，女胎50%携带，男胎50%患病，不宜生育男胎；双亲正常，母系家族无患者，考虑基因突变，可再生育，但应进行产前诊断。

（四）X－连锁显性遗传病

指导原则：凡可进行产前诊断的都可限性生育；目前无法进行产前诊断疾病，应根据疾病严重程度确定是否生育。患儿母亲若是杂合子患者，每胎子女各有50%患病风险；患儿母亲若是纯合子患者，每胎子女均患病，不宜再生育；患儿父亲患病时，每胎女性均患病，男性全部正常，可生育男胎。患儿一级和二级亲属无病时，考虑为基因突变所致，可再生育，但应该进行产前诊断。

（五）多基因遗传病

指导原则：动脉导管未闭、腭裂、先天性幽门肥大、先天性巨结肠、先天性髋关节脱位等手术效果较好，不需再生育。无脑儿、脊柱裂、脑积水等能做产前诊断的病种，在产前监测情况下，准许再生育。不能做产前诊断的病种，家系调查一、二级亲属无发病者，再发风险小于5%，可再生育；一、二级亲属有相同疾病患者，再发风险大于10%，不宜再生育。

（六）染色体病

指导原则：患儿父母染色体正常，可再生育，但需经产前诊断。

六、遗传性疾病的预防

遗传性疾病是由遗传物质异常所引起的。怎样避免生育遗传物质异常的婴儿是预防遗传性疾病的关键。现阶段主要有以下一些预防措施。

1. 避免近亲结婚

根据遗传病的发病原理，在一个有遗传病个体的家族内随着家族内个体数的一代比一代

增加，致病基因有扩散的趋势，近亲婚配将使患病个体数增加。所以，尽量避免近亲结婚对预防遗传病是一条很重要的途径。从根本上来说，避免近亲婚配就是预防患病个体的出生。有资料说明近亲婚配和非近亲婚配对子女健康的影响有明显的区别（见表 10－1）。

表 10－1 近亲配婚和非近亲婚配对子女健康影响的比较

项目 / 婚配方式	对数	双亲平均年龄	子代数	20 岁前子代死亡数	患遗传病子代数
近亲婚配	33	48.7（岁）	101	14	10
非近亲婚配	52	44.7（岁）	117	2	1

苯丙酮尿症是常染色体隐性遗传病，人群中致病基因的携带率为 1/50，在随机婚配的情况下，子女患病的可能性为 1/50×1/50×1/4=1/10 000；如携带者与一般人群婚配，其子女患病的可能性为 1/50×1/4=1/200；如果携带者与一个表型正常的近亲婚配，其子女患病的可能性明显增加为 1/8×1/4=1/32。这是由于表亲婚配有 1/8 共同基因来自同一祖辈，而且他们共同缺陷的基因不止一个，所以婚配后子代患有各种不同的遗传病。另外，在多基因遗传病中，近亲婚配子代受累的机会也比随机婚配增加，因此应尽量避免近亲结婚，提倡优生。

2. 预防患病个体的出生

为了预防畸胎的发生，应强调孕妇在妊娠早期积极预防病毒感染，避免应用某些已证明可致胎儿畸形的药物和放射线照射。大量事实证明，先天性心脏病、小头畸形、脑积水等可由风疹病毒、弓形体、巨细胞病毒感染所引起；中枢神经系统发育异常、食道闭锁、唇裂则可由流感病毒引起；21 三体综合征可能与传染性肝炎和吸烟、酗酒有关。要预防患病个体的出生，还应该明确某种遗传病的具体遗传方式及其子代患病的可能性，然后采取相应的措施。例如，甲型血友病和假性肥大型肌营养不良都是 X－连锁隐性遗传病，女性隐性致病基因携带者所生的男孩，可能一半发病，一半正常，当预测胎儿性别为男胎时，可建议流产。

3. 预防症状的发生

这是在患病个体已经出生之后，为预防某些临床症状的发生和加重所采用的方法。例如，对已确诊的半乳糖血症病儿在出生后应避免以乳类食品喂养，这样可以避免症状的发生，使病儿生长发育良好。如果发现食用乳类食品后出现症状的病儿，则应立即停食乳类食品，也可控制症状的发生和加重。对 G－6－PD 缺乏症病儿，应禁用樟脑、维生素 K、伯氨喹啉、匹拉米洞、非那西丁等药物，可以预防溶血症的发生。

4. 携带者筛查

携带者是指表型正常但带有致病遗传物质的个体。包括隐性遗传病的杂合体、染色体平衡易位的个体、倒位染色体的携带者、表型正常的延迟显性个体以及带有外显不全致病基因但不发病的个体。携带者本身的表型正常，却可以将有害遗传物质传递下去。因此，检出携带者是非常必要的，对遗传病的预防具有积极意义。

携带者的检出方法包括临床水平、酶和蛋白质水平、细胞水平和基因水平，必要时还应结合系谱分析方法。

生育指导：筛查出常染色体隐性遗传病基因携带者，应避免与患者或携带者结婚；若已经发生这类婚配，则应指导其在孕期进行产前诊断，防止患儿出生。筛查出 X－连锁隐性遗传病基因携带者，指导其在孕期进行产前诊断，限性生育。延迟显性遗传病患者的亲属，是

否进行筛查与该疾病能否治疗有关。对可治疗的疾病，建议在疾病症状出现前筛查并给予预防；对不能治疗的疾病，原则上不进行筛查，除非自我选择方可进行症状前诊断。染色体倒位或平衡易位的个体，应指导其在孕期进行产前诊断，防止患儿出生。

七、遗传性疾病的治疗

一般来说，遗传病一旦发生，很难治疗。但随着科学技术的发展，少部分遗传病可以进行必要的治疗，以减轻患者的症状和痛苦。常用的治疗策略有：①出生前即予确诊，进行产前治疗或在出生后开始治疗；②典型症状出现前予以确诊，尽量治疗。治疗方法有：①饮食控制疗法，如蚕豆病禁食蚕豆及禁止使用非那西丁等药物，可控制发病；②药物治疗；③酶的补充、替代；④手术治疗；⑤对症治疗；⑥基因治疗等。

就目前的治疗水平看，预防才是最根本的解决措施。

八、遗传咨询中的注意事项

（1）咨询医师要对询问者抱以热情、认真、负责、严肃的态度，取得信任与合作，才能得到可靠的第一手资料。

（2）要深入细致地调查和分析，排除不可能性，慎重地下结论。

（3）不在询问者面前使用恶性刺激的语言，并注意照顾夫妻双方感情。

（4）对于一些可治疗的缺陷或畸形患者，要热情地予以帮助，提出医治意见。

（5）坚持“知情选择”的原则。

（6）保存资料，以备复查时用。

第四节　产前诊断

产前诊断（prenatal or antenatal diagnosis）又称宫内诊断（intrauterine diagnosis），是对胚胎或胎儿在出生前是否患有某种遗传病或先天畸形作出准确的诊断，为能否继续妊娠提供科学依据。产前诊断是一个正在迅速发展、技术不断完善的新领域，是围产医学的重要组成部分，也是实施出生缺陷干预工程的重要手段之一，对提高人口素质具有积极意义。

一、产前诊断的对象

凡具有下列情况之一者，需进行产前诊断：

（1）高龄妊娠（高龄孕妇在35岁以上或丈夫年龄在50岁以上）。

（2）夫妇一方为单基因病患者或生育过单基因病患儿的孕妇。

（3）夫妇一方有染色体畸变或生育过染色体病患儿的孕妇。

（4）夫妇一方或直系亲属中有某种遗传病家族史者。

（5）有原因不明的习惯性流产史、畸胎史、死产或新生儿死亡史的孕妇。

（6）羊水过多的孕妇。

（7）夫妻双方或之一孕前曾接触过大量有害物质或服用过致畸药物者；孕妇在孕早期曾接触过大量有害物质或服用过致畸药物者。

（8）近亲结婚。

二、产前诊断的策略

（1）形态学检查：采用特殊仪器检查胎儿体表是否有畸形，如用X线照片或体表造影，B型超声扫描间接观察；或胎儿镜下直接观察。

（2）间接诊断方法：采用母体血、尿等特殊检查，间接诊断胎儿先天性疾病。可扩散的代谢产物及蛋白质、酶，可通过胎盘进入母血循环，这是母血、尿可作某些疾病产前诊断的基础。如测定母血甲胎蛋白（AFP）诊断胎儿神经管畸形（NTD），同时测定母血hCG和AFP可产前筛查21三体儿，测定孕妇尿中甲基丙二酸可诊断胎儿甲基丙二酸尿症。

（3）直接诊断方法：通过直接获取胎儿细胞，包括孕妇外周血中的胎儿细胞、羊水细胞、绒毛细胞或胎儿组织来诊断胎儿的遗传性疾病。

三、产前诊断的方法

（1）X射线检查：主要用于检查24周以后胎儿骨骼先天畸形。由于X射线对胎儿有一定影响，所以应尽量选择非放射性影像诊断技术进行检查。

（2）超声波检查：这是一项简便的对母体无痛无损伤的产前诊断方法。B型超声波应用最广，利用超声波能对胎儿的形态学作出明确诊断。此外，还可直接对胎心和胎动进行动态观察，并可摄像记录分析；亦可作胎盘定位，选择羊膜穿刺部位；可引导胎儿镜操作，采集绒毛和脐带血标本供实验室检查。

（3）胎儿镜（fetoscope）：又称羊膜腔镜或宫腔镜，是一种带有羊膜穿刺的双套管光导纤维内窥镜。能直接观察胎儿，可于怀孕15～21周进行操作。主要用于胎儿血的取样、活检和产前诊断，也可对胎儿形态异常进行观察。此外，胎儿镜还可判定胎儿性别和对某些遗传病进行宫内治疗。由于B超的应用，此方法已少用。

（4）羊膜穿刺（amniocentesis）：亦称羊水取样，如图10－1所示。抽取羊水的最佳时间是妊娠16～20周。此时羊水量多、胎儿浮动，穿刺时进针容易，且不易伤及胎儿。羊水中有胎儿脱落细胞，经体外培养后，可进行染色体分析、酶和蛋白质检测、性染色质检查，或提取DNA作基因分析；也可不经培养，用微量技术作酶和蛋白质分析或直接提取DNA作基因诊断。

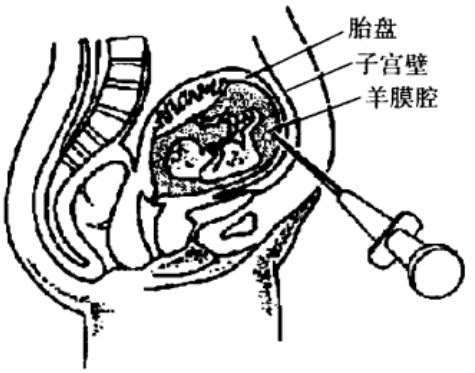


图10－1 羊膜穿刺抽取羊水

（5）绒毛吸取：绒毛可经宫颈部取样，最好在B超监视下进行。绒毛取样（chorionic

villi aspiration sampling）（如图 10－2 所示）一般于妊娠 9～11 周时进行。绒毛枝经处理（与蜕膜严格分离）或经短期培养后进行染色体分析、酶和蛋白质检测和直接抽取 DNA 进行基因分析。

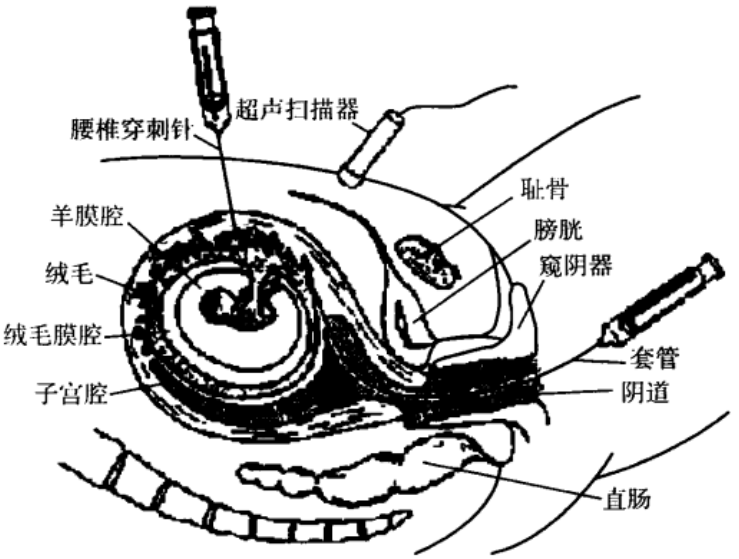


图 10－2　绒毛吸取术吸取绒毛

（6）脐带穿刺术（cordocentesis）：经母腹抽取胎儿静脉血，可在 B 超引导下于孕中期、孕晚期（17～32 周）进行。这项技术在我国已远较国外普及，成功率高，也较安全。脐血可作染色体或血液学各种检查，亦可用于因羊水细胞培养失败，DNA 分析无法诊断而能用胎儿血浆或血细胞进行生化检测的疾病，或在错过绒毛和羊水取样时机下进行，在有些情况下，可代替基因分析。例如，α 地中海贫血可直接测定 Hb Barts；血友病可直接测定凝血因子等。

（7）孕妇外周血分离胎儿细胞：这是一项非创伤性产前诊断技术，并易于被孕妇接受。孕妇外周血中的胎儿细胞至少有 3 种，即滋养叶细胞、有核红细胞和淋巴细胞。目前普遍采用胎儿有核红细胞进行多种遗传病的基因诊断和胎儿性别鉴定，该方法是一个简便、经济、快速进行产前诊断的有效方法。目前，有人还在孕妇血浆中寻找游离的胎源性遗传物质（DNA 或 RNA）进行遗传病或胎儿性别检查。

（8）植入前诊断（preimplantation diagnosis）：利用显微操作技术和 PCR 技术对胚泡植入前进行检测。获得植入前胚胎的主要方法是子宫冲洗和体外授精。植入前诊断的基本技术包括：①卵裂球的微活检：从 2～8 个细胞期的胚胎细胞中分离出单个细胞进行检测；②胚胎的冻存：如果微活检技术快速，则无须冻存即可送回子宫；③卵裂球的培养：其目的在于得到更多的细胞，有利于诊断；④采用荧光原位杂交（FISH）或寡核苷酸启动的原位 DNA 合成（PRINS）技术进行染色体或基因诊断。

四、产前诊断方法对母体及胎儿的影响

（1）利用孕妇外周血中分离胎儿细胞进行相关检查方法的稳定性有待提高，尚未广泛用于临床实践。

（2）B 超检查对胎儿和孕妇基本无损害。

（3）诊断剂量的X线照射，对胎儿没有明显不良影响。

（4）绒毛采样操作失败及胎儿流产的风险略高于羊水穿刺，大多数实验结果表明该技术是比较安全的。孕早期确诊后若选择终止妊娠，只需在门诊行吸宫术，在医疗上更安全，孕妇感情上容易接受。

（5）羊膜穿刺采样操作失败及羊水细胞培养失败的可能性小于0.1%，流产的风险约为0.5%，对胎儿或母体感染和损伤的可能性小于0.5%。该技术被认为是一种较为安全的方法，但在孕中期进行，若选择终止妊娠，需要住院引产，孕妇感情上不易接受。

（6）脐带穿刺取样引起流产的风险增大。但错过绒毛取样、羊水取样时间而需要进行产前诊断者，可用此法。

（7）胎儿镜检，如果操作不慎，可引起出血、组织损伤、流产、死产及感染等并发证，应谨慎采用。

五、常见先天性疾病的产前诊断

先天性疾病中，较常见的有染色体病和代谢性缺陷病。临床上表现为发育畸形，胚胎或胎儿宫内死亡，导致流产、早产、死胎、死产或新生儿死亡。幸存者表现出不同的畸形、功能障碍、智力发育不全。如果能对先天性疾病进行产前诊断，则可防止患儿出生，对家庭及社会均有极大好处。

（一）神经管缺陷（Neural Tube Defect，NTD）的产前筛查与产前诊断

1. 甲胎蛋白（AFP）筛查

样本来源：孕16周后，孕妇血清或胎儿羊水。

结果分析：当胎儿有开放性神经管缺陷、先天性肾病、先天性食道闭锁、脑积水、脏器外翻、囊性水肿等缺陷时，孕妇血清或胎儿羊水AFP值有不同程度增高。当羊水AFP水平显著增高时，可作为神经管缺陷诊断指标，孕母血中AFP水平升高到正常值的2.5倍左右可作为神经管缺陷筛查指标。

甲胎蛋白是胎儿血清最常见的球蛋白，合成于胎儿的卵黄囊和肝脏中，胎儿上皮完整时，少量的AFP从胎儿泌尿道排入羊水中。1972年，Brock首次发现，羊水AFP的升高是诊断胎儿神经管缺陷的可靠指标。1973年，他又发现，母血中AFP的升高也是诊断胎儿神经管缺陷的一种简便方法。目前，利用测定羊水和母血AFP诊断胎儿神经管缺陷已经广泛应用于临床。如果胎儿有开放性神经管缺陷，则孕妇血清中AFP增高，一般妊娠12周即可在母血清检测到，30周左右可达到高峰。

（1）孕妇血AFP测定作为初步筛选，如果孕妇血AFP高于同期正常孕妇水平2个标准差，则再次复查，如果仍明显升高，应作羊水AFP测定。

（2）孕16～24周作羊膜腔穿刺，测定羊水中AFP含量，如果超过正常值3～5个标准差以上，NTD的诊断即可成立。通过AFP测定，约90%的NTD可以得到确诊。

（3）羊水乙酰胆碱脂酶（AChE）测定。AChE在神经组织中产生，胎儿患有NTD时可渗透进入羊水中，致使羊水中AChE活性显著增高。此酶含量较稳定，不受孕期和胎血污染影响，且可以弥补羊水AFP测定的不足。

2. B超筛查

可直观检测出无脑儿、脊柱裂、脑膨出等神经管畸形，在孕中期进行。无脑儿B超声像图特征是：①缺少头颅光环；②胎头部为“瘤结”状物代替；③“瘤结”上可见眼眶鼻

骨；④“瘤结”后方可见脑膜囊；⑤常合并脊柱裂，且羊水过多。

3. 基因突变分析

人类 MTHFR 和 MTRR 的基因突变分析，可以预测和诊断 NTD 儿的发生。

（二）唐氏综合征产前筛查与产前诊断

1. 唐氏综合征产前筛查

筛查方案：AFP、hCG 二联或 AFP、hCG 和 μE3 三联筛查。

样本来源：孕 14～20 周，孕妇血清。

结果分析：对筛查中发现的高风险孕妇，建议进行胎儿细胞核型分析。筛查试验可以缩小产前诊断的范围，但筛查不是明确的诊断。

2. 唐氏综合征产前诊断

孕 16～20 周羊水穿刺，进行胎儿细胞核型分析。

思考题

1. 何为出生缺陷？我国出生缺陷的现状怎样？
2. 我国出生缺陷干预的意义是什么？
3. 出生缺陷干预的措施有哪些？
4. 何为遗传咨询？遗传咨询的对象有哪些？
5. 何为产前诊断？产前诊断的对象和方法有哪些？

（丁显平　李科生　魏　霞）

第十一章 常见遗传性疾病及先天性畸形的诊断要点

第一节 常见染色体病的诊断要点

一、21 三体综合征

（一）染色体检查的适应证

（1）年龄在 35 岁以上的初产妇和 50 岁以上的父亲。

（2）曾生过 21 三体儿再次妊娠的孕妇。

（3）夫妇双方或一方为染色体异常的个体（如 14/21 平衡易位，21 三体嵌合型等）。

（4）孕早期生化检查有异常，如 AFP、妊娠相关血浆蛋白等。

（5）医生怀疑为 21 三体患者。

（二）检查方法

（1）婚前检查者做外周血淋巴细胞染色体检查。

（2）产前检查：羊水、绒毛染色体，胎儿脐血染色体。目前较新的有母血富集胎儿细胞作 FISH 等技术。

（三）诊断标准

计数 20 个细胞的染色体，分析 5 个核型，若发现核型为 47，XX(XY)+21；46，XX(XY)/47，XX(XY)+21 或易位型，诊断成立，应终止妊娠或进行婚姻指导。若为嵌合型，应扩大计数和分析范围（100 个为宜）计数 21 三体比例。

二、18 三体综合征

（一）染色体检查的适应证

凡夫妇双方或一方为染色体异常个体，或夫妇双方或之一年龄过大而妻子怀孕时，均应作 18 三体的产前诊断。

（二）检查方法

羊水、绒毛、胎儿脐血染色体检查。

（三）诊断标准

每例计数 20 个分裂相细胞染色体，分析 5 个细胞核型，若发现核型为 47，+18；

46/47，+18 或易位型等，诊断成立，应终止妊娠。若为嵌合型，应分析计数 100 个细胞的染色体，计数 18 三体比例。

三、13 三体综合征

13 三体综合征又名 Patau 综合征，1960 年由 Patau 等首先发现本病患者多了一条 D 组染色体，后被确认为系第 13 号染色体。

（一）染色体检查的适应证

凡双方或一方为染色体异常个体（染色体平衡易位，嵌合体等），妻子怀孕时均应作产前诊断。

（二）检查方法

羊水、绒毛、胎儿脐血染色体检查。

（三）诊断标准

每例计数 20 个分裂相细胞染色体，分析 5 个细胞核型，若发现核型为 47，XX(XY)+13；46，XX(XY)/47，XX(XY)+13 或易位型等，诊断成立，应终止妊娠。若为嵌合型，应分析计数 100 个细胞的染色体，计数 13 三体比例。

四、Turner 综合征

Turner 综合征译为特纳综合征，1938 年 Turner 对该病作了记载，并描述了该综合征的特征。Turner 综合征是女性原发不育常见的原因。

（一）染色体检查的适应证

疑为先天性卵巢发育不全或女性原发不育或原发闭经的患者。

（二）检查方法

外周血淋巴细胞培养作染色体检查。

（三）诊断标准

每例计数 20 个分裂相细胞染色体，分析 5 个细胞核型，若发现核型为 45，X；45，X/46，XX 等，诊断成立。应分析计数 100 个细胞的染色体。

五、Klinefelter 综合征

Klinefelter 综合征（先天性睾丸发育不全综合征或小睾症）常称为克氏综合征，1942 年由 Klinefelter 首先记载而得名。

（一）染色体检查的适应证

疑为先天性睾丸发育不全或男性原发不育的患者。

（二）检查方法及诊断标准

每例计数 20 个分裂相细胞染色体，分析 5 个细胞核型，若发现核型为 47，XXY；46，XY/47，XXY 等，诊断成立。应分析计数 100 个细胞的染色体。

第二节 单基因遗传病的诊断要点

一、常见甲型血友病诊断要点

甲型血友病（Hemophilia A）为Ⅴ Ⅲ因子缺乏症。1793 年有人描述过此病，其致病基因——控制 AHG 合成的基因，定位于 Xq28。

1. 临床表现

典型表现：凝血时间延长，轻微外伤或小手术或割伤之后，出血不止。出血特点：①多发生在轻伤如拔牙或刷牙、割伤之后；②缓慢持续渗血；③多数患儿为皮下、肌肉和关节出血，出血部位发生淤斑、青紫块或血肿。

2. 实验室检查

凝血时间延长，凝血酶原消耗不良，凝血活酶生成不良以及Ⅴ Ⅲ测定时，Ⅴ Ⅲ因子减少或缺如。

3. 携带者的筛查

以前常用放免作Ⅴ Ⅲ因子活性测定，杂合子（携带者）其Ⅴ Ⅲ因子活性为正常的 50%。目前常用Ⅴ Ⅲ因子相关抗原（Ⅴ ⅢRAg）升高作为指标，即用Ⅴ ⅢRAg/AHG 来判定杂合子，可检出 90%以上携带者。基因诊断技术可检测杂合子。

4. 产前诊断的适应证

凡生过甲型血友病患儿的夫妇，或经检查为甲型血友病携带者或患者的夫妇，妻子怀孕，需作胎儿甲型血友病的产前诊断。

5. 检查方法

（1）羊水、绒毛、胎儿脐血作染色体分析：若核型为男胎（46，XY），则应终止妊娠；若核型为女胎（46，XX），则可继续妊娠。

（2）胎儿脐血 AHG 分析：用放免法测脐血血清中 AHG 含量（孕中、晚期进行）。若 AHG 很低或缺如，则应终止妊娠。

（3）脐血基因分析：在孕中、晚期，用胎儿血白细胞提取 DNA，用 ST_{14} 和 HEMA 探针来检测Ⅴ Ⅲ因子的基因，若异常，应终止妊娠。

二、乙型血友病诊断要点

乙型血友病（Hemophilia B）为第Ⅸ因子缺乏症，其致病基因定位于 Xq26.3－27.2。

1. 实验室检查

凝血酶原消耗纠正试验，轻型病例诊断可依据凝血活酶生成纠正试验或第Ⅸ因子定量测定低于正常值（60%～140%）而确定。

2. 携带者的检测

Ⅸ因子 Ag，因子Ⅸ的含量作为筛选，还可通过对多种体细胞 DNA 进行 RFLP 分析。

3. 产前诊断的适应证

同甲型血友病。

（1）羊水、绒毛、胎儿脐血染色体分析：若核型为男胎，则应终止妊娠；若核型为女胎，则可继续怀孕。

（2）DNA 分析：在孕中、晚期，用脐血白细胞提取 DNA，然后作 RFLP 分析。异常者，应终止妊娠。

三、假性肥大型肌营养不良（DMD）诊断要点

DMD 的致病基因定位于 Xp21。

1. 实验室检查

（1）24 h 尿中肌酶排量升高，肌酐降低。

（2）血中磷酸肌酸激酶（CPK）升高，也有报告，血清丙酮酸激酶（PK）比 CPK 更敏感。

（3）肌纤维活检可见变性、萎缩，肌细胞核移至无肌纤维中心。

（4）携带者检出：LDH 同工酶、LDH1－3 活性明显升高，LDH－5 也增高，而 CPK 可正常。

2. 携带者筛查

PCR 技术。

3. 产前诊断的适应证

生过 DMD 患儿的夫妇，或经检查一方为 DMD 携带者的患者。

（1）羊水、绒毛、胎儿脐血等染色体分析：核型若为 46，XY，应终止妊娠；若为 46，XX，可保留。

（2）脐血 CPK 和肌红蛋白（Mb）分析，在孕中、晚期进行。Mb 用放免法最好。

四、α－地中海贫血诊断要点

α－地中海贫血基因定位于第 16 号染色体上，每条 16 号染色体上各有 2 个 α 珠蛋白基因。

1. 实验室检查

血象、骨髓象、Hb 测定。

2. 产前诊断的适应证

凡生过 α－地中海贫血患儿的夫妇或经检查为患者的，若妻怀孕，应作此诊断。胎儿脐血 Hb 分析，若有异常，应终止妊娠。若作基因诊断，发现 α 珠蛋白基因缺乏或异常，应终止妊娠。

（1）胎儿脐血 Hb 分析：在孕中、晚期进行，用 Hb 电泳可测。

（2）羊水、绒毛等细胞提取 DNA 作 DNA 点杂交和限制性酶酶谱分析，直接检测 α 珠蛋白基因。

（3）PCR 技术：扩增珠蛋白基因，检测 α 珠蛋白基因缺失。

五、β－地中海贫血诊断要点

β－地中海贫血致病基因定位于第 11 号染色体上，每条 11 号染色体上各有 1 个 β 珠蛋白基因。

1. 实验室检查

(1) 血象、骨髓象、Hb、网织红等检查。

(2) RFLP 间接检查 β－地中海贫血基因。

(3) PCR/ASO（特异位点的寡核苷酸探针杂交）扩增地中海贫血基因，然后测定。

2. 产前诊断的适应证

凡生过 β－地中海贫血病患儿的夫妇或经检查为 β－地中海贫血携带者或患者，若妻怀孕，应做产前诊断。脐血 Hb 分析发现 β 链合成减少，HbA_2（高于 3.12%）和 HbF 异常增高，诊断为此病，应终止妊娠；PCR/ASO 发现 β 链基因突变，该病诊断也成立，应终止妊娠。

(1) 胎儿脐血 Hb 分析，在孕中、晚期进行。

(2) 羊水、绒毛、胎儿脐血 DNA 分析：RFLP 查 β－地中海贫血基因，PCR/ASO 可检测地中海贫血基因。这是目前较好的一种方法。

六、黏多糖贮积病（MPS）诊断要点

1. MPS－IH 型（Herler 综合征）

(1) 实验室检查：①外血及骨髓象检查：粒细胞和淋巴细胞系中可见由黏多糖堆积而成的深紫色，大小不等，形状不同的异常颗粒；②酶学分析：测 a－L－艾杜糖苷酸酶活性；③X 线检查骨骼。

(2) 产前诊断的适应证：凡家族中有黏多糖贮积症 IH 型患者，生过该症患儿的夫妇，若妻怀孕，需做产前检查。若 a－L－艾杜糖苷酸酶活动性极低，该病诊断成立，应终止妊娠。

检查方法：羊水、绒毛等细胞经培养后做 a－L－艾杜糖苷酸酶活性测定。

2. MPS－IS 型（Scheie 氏病）

(1) 实验室检查：①外血、骨髓象检查；②酶学分析：a－L－艾杜糖苷酸酶；③X 射线检查：骨骼。

(2) 产前诊断的适应证：家族中有 MPS－IS 型患者，生过 MPS－IS 型患儿的夫妇，若妻怀孕，应做产前诊断。羊水、绒毛等细胞培养后做 a－L－艾杜糖苷酸酶的分析，若极低，即可诊断为该病，应终止妊娠。

3. MPS II 型（Hunter 氏综合征）

由 a－L－艾杜糖醛酸－2－硫酸酯酶缺乏引起，为 X 连锁隐性遗传（XR）。

(1) 临床症状：轻度心脏、骨骼疾病，有侏儒、耳聋等，肝脾肿大。

(2) 实验室检查：①X 线检查骨骼有异常；②酶学分析：a－L－艾杜糖醛酸－2－硫酸酯酶极低；③血象、骨髓象检查。

(3) 产前诊断的适应证：凡家族中有 MPS II 型患者，女方是 MPS II 型患者，生过 MPS II 型患儿夫妇，若怀孕，需做产前诊断。

(4) 产前诊断方法：①羊水、绒毛等细胞培养后做酶学分析；②胎儿脐血血浆或白细胞做酶学分析；③羊水、绒毛、脐血等做染色体检查。

(5) 诊断标准：①标本中 a－L－艾杜糖醛酸－2－硫酸酯酶极低，诊断为此病，应终止妊娠；②染色体检查：核型为 46，XY，应终止妊娠；核型为 46，XX，可继续妊娠。

4. MPS IV A 型（Morquio 氏综合征 A 型）

由 N－2－乙酰氨基半乳糖－6 硫酯酶缺乏引起，属常染色体隐性遗传病（AR）。

（1）临床表现：智力可正常，但有严重的骨骼畸形，角膜浑浊，心脏有疾病，侏儒。一般在 3～4 岁后因行走困难和脊柱畸形而被发现。

（2）实验室检查：①X 线检查骨骼；②骨髓象、血象检查；③酶学分析。

（3）产前诊断的适应证：凡家族中有 MPS IV A 型患者或生过 MPS IV A 型患儿的夫妇，若怀孕，需做产前诊断。

（4）检查方法及标准：①羊水、绒毛等细胞培养做半乳糖苷－6 硫酸酯酶活性分析；②胎儿脐血酶学分析：胎儿脐血白细胞做酶学分析，若半乳糖苷－6 硫酸酯酶活性极低，即可诊断为此病，应终止妊娠。

5. MPS IV B 型（Morquio 综合征 B 型）

由 β－半乳糖苷酶缺乏引起，属 AR。

（1）临床表现：与 A 型相似，但症状较轻。

（2）实验室检查：和 A 型相似。

（3）产前诊断的适应证：凡有家族史的夫妇或曾生过该病患儿的夫妇，若怀孕，应做此诊断。

（4）检查方法：羊水、绒毛、脐血白细胞做 β－半乳糖苷酶分析。若该酶活性极低，诊断为此病，应终止妊娠。

第三节　几种严重的先天性畸形及其他遗传病的诊断要点

一、神经管缺陷诊断要点

神经管缺陷（Neural Tube Defect，NTD）为中枢神经系统的先天性畸形，最常见者为无脑伴有或不伴脊柱裂和脊柱裂伴有或不伴脑积水。

人类中枢神经系统的前身为神经管。在受精卵发育至第 24 天，前神经孔封闭，至第 26 天，后神经孔封闭，最后形成神经管。

如果前神经孔未封闭，则形成无脑畸形（颅顶缺如）。患儿出生数小时内死亡，有的为死胎，有的则在孕中期自发性流产。

脑膨出为脑和膜脑从颅骨块缺失处突出，常常发生在枕骨部位，可伴有其他畸形，如果膨出部位体积小，患儿可能存活，但具有严重的神经系统疾患，包括智力发育障碍。

如果神经弓未闭，会形成脊柱裂，最常见的发生部位为腰椎区。脊柱裂是一种由于脊髓在未闭的脊柱处突出，内有脊髓和神经，如不伴其他畸形，患儿可存活而无症状，但 90% 的病例会出现严重的神经系统的功能损害，包括下肢无力或瘫痪。

据国外资料报告：新生儿 NTD 的发病率在美国为 1‰～2‰，男女之比无脑为 0.4∶1，脊柱裂为 0.7∶1；英国为 4‰，某些地区发病率加倍。我国的 NTD 发生率平均为 4.8‰，即每年有 8～10 万个神经管畸形儿出生，且北方多于南方。

NTD 的病因迄今不明，但普遍认为与叶酸缺乏有关，遗传因素和环境因素（致畸原为

氨基蝶呤等）以及原因不明的特异表现型——颅面和肢体缺陷综合征等也与其有关。

NTD 的产前诊断：

（1）AFP 检查。

①孕 10～13 周最高，达 300 mg/dl，以后逐渐下降。

②羊水 AFP：羊水中 AFP 来自胎儿尿液，其浓度在孕 13 周达最高，以后逐渐下降。羊水中 AFP 浓度为胎血清中的 1/300。

③母血 AFP：羊水中 AFP 通过胎盘和羊膜而渗入母血中，其浓度自妊娠 12～14 周开始上升，至第 32 周达高峰。

AFP 是诊断 NTD 的有效指标，但不是唯一指标，AFP 升高时还可见于先天性肾病综合征、脐疝、膈疝、食道闭锁、多胎、死胎等。

（2）B 超检查：目前用得较多，孕 14 周可做。17～18 周为最佳的脊柱裂 B 超诊断时间。

（3）乙酰胆碱酯酶测定：该酶来自神经组织。出现 NTD 时该酶活力升高，可作为 NTD 的确定性诊断。用电泳法、酶法均可。

（4）X 射线检查：摄片、造影均可，现在用得不多。

（5）羊水细胞迅速黏附实验：NTD 羊水细胞在培养后 24 h 内有一部分活细胞（大于 10%）迅速黏附在载玻片上。观察此种细胞形成与正常细胞形成之区别并计数，有诊断价值。

（6）其他：如孕妇尿雌激素/肌酐比值测定，当出现 NTD 时，羊水刀豆球蛋白不结合型指标 AFP 会降低。

二、强直性肌营养不良诊断要点

1890 年 Delege 首先描述此病，1909 年有人强调该病具有肌强直、肌萎缩等特征。患病率为 1/（8 000～20 000）。本病为常染色体显性遗传。

临床表现：本病可发生于任何年龄，但多见于青春期后，平均起病年龄约 25 岁，男多于女。主要症状为肌强直、肌萎缩和无力。首先症状是肌强直，严重程度因人而异。常有握手或持物后不易放松。肌无力和肌萎缩在肌强直后几年发生，全身所有骨骼肌均受累。面部、四肢远端肌肉及胸锁乳突肌萎缩，面容瘦长，无表情。

大部分患者有前额秃发，多汗，男性性功能障碍，睾丸萎缩等现象；女性月经不调，不孕。部分患者智力衰退甚至痴呆。本病进程缓慢，可达 20～25 年，多数于 45～50 岁内死亡。

诊断要点：

（1）发病年龄一般始于 20～30 岁。

（2）表现为进行性面部、四肢远端肌肉与胸锁乳突肌萎缩，面部显得无表情。

（3）检查发现肌肉的收缩与松弛皆迟缓，如握手后不能正常放松。患者肢体僵硬，活动不灵。

（4）典型者有未老先秃，早年白内障，智能减退，男性睾丸萎缩。

三、软骨发育不全诊断要点

本病为常见的侏儒畸形之一。基本病变为软骨母细胞的生长及成熟发生障碍，导致软骨内成骨障碍。

遗传方式：常染色体显性遗传。80%患者的父母均正常，系基因的新发突变所致。

临床表现：出生时即出现头大、塌鼻、下颌前凸，臀部后翘，躯干近乎正常，四肢短粗伴车轮状张开的肥硕的手指。患者大多数智力正常。

诊断要点：

（1）出生时即有明显的骨骼畸形。

（2）长大后的典型表现为短肢性侏儒。

主要表现：

（1）四肢短，特别是上臂和肢部最为明显，而躯干正常。

（2）头增大，面部宽，前额突出，鼻梁扁平，上齿槽突起，上颌骨突出。

（3）胸扁平，肋缘外翻，脊柱胸腰段后突加大，腹部前突和臀后突，形成特殊体态。

（4）手短而宽。

（5）X射线检查提示：肱骨干骺端呈喇叭形，骨骺套其中，第一腰椎至第五腰椎间距离逐渐变窄，与正常人相反。

四、成骨发育不全诊断要点

本病为常染色体显性遗传。

临床表现：本病以骨骼易折、巩膜蓝色、耳聋为主要特点。可分三型：①胎儿型最为严重，大都是死胎或生后不久死亡，其颅骨骨化不全，产前或生后即有多数骨折。②婴儿型则比较常见，出生后即可有骨折，在4～5岁后骨折次数频繁，轻微外伤即可造成骨折；多见有蓝色巩膜。③少年型是最轻的一种，出生时无骨折，但在儿童时易骨折，病儿长大后有自动改善的趋势，但多伴有耳聋；X射线检查可见长骨细长，折断愈合者有弯曲畸形。

诊断要点：

（1）出生后，患儿极易骨折。

（2）青春期后，可能由于内分泌的变化骨折倾向减低。由于多次骨折及分形腿，故下肢短。患者呈短肢性侏儒，耳骨硬化导致耳聋。

（3）眼部特点为蓝色巩膜，皮肤薄，易有皮下出血。

（4）X射线检查提示骨皮质极薄，骨质疏松，透亮度明显增高，有多处骨折。

五、先天性无虹膜诊断要点

无虹膜指肉眼看不到虹膜组织。这种病较少见，我国群体患病率为1/100 000，且均为常染色体显性遗传。伴有肾脏肿瘤者为第11号染色体短臂缺失。

临床表现：因看不见虹膜，因此，瞳孔与角膜等存在。可伴有角膜周边浑浊，青光眼、白内障，视网膜中心窝发育不全；视力较差，畏光。本病患者的子代与弟妹约50%发病。

诊断要点：

（1）有遗传史，患者畏光，亦有弱视，眼球震颤继发性青光眼。

（2）典型无虹膜均为双侧性，或伴有其他畸形。

（3）肉眼可见双眼无虹膜，或在前房镜下可见蜷缩在房角的虹膜残根，使房水流出受阻。

（4）晶体亦逆部暴露。

六、视网膜色素变性诊断要点

本病是较常见的致盲眼病，我国群体患病率约为 1/3 500。

遗传方式：常染色隐性遗传（92%），常染色体显性遗传（5%）与 X 连锁隐性遗传（3%）。

临床表现：

（1）主要症状为儿童或青少年期起病的进行性夜盲与视野缩小。中年时常已致盲。

（2）眼底检查可见视网膜萎缩、散布多个骨细胞状或圆形色素堆积，视网膜血管变细。视神经乳头呈蜡黄色，视网膜血流图熄灭或严重降低。

诊断要点：

（1）有家庭遗传病史，常在儿童时期发病，青春期症状加重。

（2）夜盲和双眼视野逐渐向心性缩窄为本病特征。

（3）眼底检查：可见视网膜血管变细，视网膜有多量色素堆积，视乳头呈蜡黄色。

（4）EDG（眼电图）、ERG（视网膜电流图）确诊试验：呈熄灭型或明显降低。

七、显性遗传的双侧性先天性小眼球诊断要点

先天性小眼球是一种常见眼病，我国群体患病率约为 1/10 000。主要特征是眼球发育不全，各部组织均小于正常人。

遗传方式：在我国，多数为散发性（85%～90%），少数有家族史，可为常染色体显性、隐性或 X 连锁隐性遗传。显性遗传者常伴先天性白内障。

临床表现：

（1）眼球小于正常，眼眶、眼睑、睑裂均较小，眼球小而深陷，视网膜发育不全。

（2）多数病例伴其他畸形，包括角膜白斑、眼球组织缺损、先天性白内障、无虹膜等。

（3）一般视力较差，严重的小眼球伴其他畸形者视力极差，以至于致盲。

诊断要点：

（1）眼球及角膜在出生时即明显小于正常，常伴有眼内组织缺损、先天性白内障等。

（2）临床检查：除眼球小外，还伴有睑裂小、眼球深陷、眼睑较小。

八、白化病诊断要点

本病是一种先天性皮肤毛发色素缺乏的疾病。

遗传方式：全身性白化病（隐性遗传）、局部性白化病（显性遗传）。

临床表现：全身性白化病患者全身黑色素细胞均缺乏酪氨酸酶，不能使酪氨酸变成黑色素。不含黑色素的皮肤呈白色或淡红色，毛发银白或淡黄色，虹膜及脉络膜不含色素，因而虹膜及瞳孔呈浅红色，并且畏光。部分患者有屈光不正、斜视及眼球震颤等。少数白化病患者智力低下，体格发育不良。

局部白化病的患者在皮肤上有大小不等的白斑，在白斑部分的皮肤黑色素细胞不含酪氨酸酶及黑色素。白斑可以发生在身体的任何部位，在幼年期即已发生，附近皮肤色素不增多，损害永不改变。

诊断要点：

（1）皮肤呈浅粉红色或白色。

（2）毛发银白色，虹膜灰蓝色，但瞳孔呈粉红色。

（3）畏光，双眼常有内斜或外斜视，水平震颤，视力减退。

（4）日光照射部位的皮肤易出现灼伤，久之可出现癌变。

（5）部分患者伴智力低下。

九、先天性聋哑诊断要点

先天性聋哑又名遗传性耳聋。凡耳聋者有50%可归因于遗传因素，其发病率为1/3 600。

遗传方式：常染色体隐性遗传（最常见，占80%）。

临床表现：患者表现为双侧耳聋，不会说话，可以发出正常哭声，智力发育正常。由于患儿听不到说话声音，不能学习语言，故又聋又哑。先天性聋哑除遗传因素外，母亲妊娠时患风疹或药物中毒（奎宁或链霉素），也影响胎儿内耳发育，应在询问病史时查清。

诊断要点：

（1）患儿出生后即有严重的听力减退，由于听力差，无法学语言，因而造成继发性语言障碍。

（2）本病与后天性聋哑的区别：

①后天性聋哑有明确的病史，如中枢神经感染，使用耳毒性药物。

②后天性耳聋一般出生后有听力与语言学习能力，但在感染和使用药物后听力明显下降，学习语言能力功能随之丧失。

③体检时目前还无法鉴别，诊断主要依靠病史。

思考题

1. 简述常见染色体病的诊断要点。
2. 简述常见单基因病的诊断要点。
3. 简述神经管畸形在我国的发生情况。怎样对该畸形进行干预？
4. 简述21三体综合征的产前筛查的步骤及注意事项。

（丁显平　宋文奇）

第十二章 人类基因组及基因组计划

第一节 人类基因组

人类基因组是人类体细胞中所具有的携带遗传信息的全部遗传物质的总和，包括所有的基因和基因间区域。

为什么要关注基因？因为基因在个体的形态发育、物质代谢和免疫状态中起着决定性的作用，基因在疾病的发生发展中也起着决定性的作用。致病基因和易感基因是当今基础医学和临床各科研究的热点和前沿，已知10 000多个单基因病或性状，以神经科为例，已知的有DMD/BMD、DM、HD、Wilson D、SCA1等；另一些常见病是许多基因共同作用的结果，如高血压、糖尿病、精神分裂症、多数先天畸形、多数肿瘤。人类的遗传物质是DNA，分别存在于细胞核和线粒体中。细胞核中的DNA与蛋白质结合，以染色体的形式存在；细胞质中线粒体DNA则为裸露的环状双螺旋分子。其中染色体DNA又称为核基因组，线粒体DNA称为核外基因组。核基因组约有3×10^9碱基对，核外基因组有16 569个碱基对，共编码3.5～4万个基因。

人类基因组由核基因组和线粒体基因组两部分组成。

1. 核基因组

核基因组含有24条染色体DNA，约30亿碱基对。根据其是否编码基因，可分为基因序列（～20%）和基因外DNA（～80%）；在基因序列中只有不到10%的DNA编码蛋白质，而超过90%的DNA构成基因内非编序列。

根据基因组中某DNA序列出现频率的情况，核基因组DNA又可分为单一序列和重复序列。

单一序列（unique sequence）约占基因组的60%～65%，是指在一个基因组中仅有一个或少数几个拷贝的序列，包括大多数编码蛋白质的基因和假基因等。

重复序列（repetitive sequence）是指在一个基因组中存在很多拷贝的序列，根据重复次数的多寡又可细分为以下三类：

（1）基因家族和基因簇：基因家族（gene family）是来源相同、结构相近、功能相关的一组基因，基因家族的各成员可以成簇存在，也可以分布在不同的染色体上。集中成簇存在的一组基因称为基因簇（gene cluster）。

（2）中度重复序列（moderately repetitive sequence）：重复单位长度在300 bp～7 000 bp，一般不编码蛋白质。例如Alu家族（Alu family），由300 bp的重复单位构成，在

第 170 位附近都有 Alu I 的识别切割位点（AG↓CT），在基因组中重复 30～50 万次，平均 5 kb DNA 就有一个 Alu 序列。

（3）高度重复序列（highly repetitive sequence）：重复单位长度可以是 2、4、6、8 直至 200 bp，重复拷贝数可高达百万次。例如染色体着丝粒、端粒和 Y 染色体长臂上的异染色质区等，这些序列不转录，但参与维持染色体的结构，并可能与减数分裂时同源染色体的联会配对有关。

2. 线粒体基因组

人类线粒体 DNA（mitochondrial DNA，mtDNA）由16 569碱基对组成，为双链环状 DNA。共含有 13 个编码蛋白质的基因，2 个 rRNA 基因和 22 个 tRNA 基因，其中编码蛋白质的基因分别为 7 个嘌呤链 NADH 脱氢酶亚单位基因、3 个细胞色素氧化酶亚单位基因、2 个ATP 酶组分基因和 1 个细胞色素 b 基因。线粒体基因组是独立于细胞核基因组之外的自主复制单位，具有如下特点：

（1）无内含子，基因排列非常紧凑，且密度高。

（2）部分密码子不同于核内 DNA 的密码子，即有些密码子为线粒体特有，不能通用。该特点源于 mt tRNA 基因的特性。如 UGA 在线粒体基因中不是终止子，而是色氨酸密码子；AGA、AGG 不编码精氨酸而是终止子。起始甲硫氨酸密码子有 AUG、AUC、AUU 和 AUA 四个，内部甲硫氨酸密码子有 AUG 和 AUA 两个，而核基因组的甲硫氨酸密码子只有 1 个 AUG。

第二节　人类基因组的 DNA 标记

基因虽然是非常有用的标记，但并非理想的标记。原因之一是，高等生物如人类和显花植物，可用作标记的基因十分有限，许多性状都涉及多基因。此外，高等生物基因组中存在大量的基因间隔区，纯粹用基因作为标记将在遗传图中留下大片的无标记区段。还有一个原因是，只有部分基因的等位基因成员可以通过常规实验予以区分，因而产生的遗传图是不完整的，必须寻找其他更有效的标记。

基因之外的遗传标记统称 DNA 标记。与基因标记一样，DNA 标记也必须有等位成员。有 3 种类型的 DNA 顺序可满足上述要求。

1. 限制性片段长度多态性（Restriction Fragment Length Polymorphisms，RFLPs）

限制性片段长度多态性概念产生于 1980 年（David Bostein 等）。其基本设想是，由于同源染色体同一区段 DNA 顺序的差异，当用限制酶处理时，可产生长度不同的限制性片段。这些 DNA 片段经琼脂糖凝胶电泳分离，可直接显示不同个体同一位点 DNA 组成的差异。限制酶识别的碱基顺序有专一性，所以用不同的限制酶处理同一 DNA 样品时，可以产生与之对应的不同限制性片段，可提供大量位点多态性信息。RFLP 是第一种被用于作图研究的 DNA 标记，它们一般有如下特征：①处于染色体上的位置相对固定；②同一亲本及其子代相同位点上的多态性片段特征不变；②同一凝胶电泳可显示不同多态性片段，具有共显性特点。

2. 简单序列长度多态性（Simple Sequence Length Polymorphisms，SSLPs）

SSLP 产生于重复顺序的可变排列，同一位点重复顺序的重复次数不同，表现出 DNA 序列的长度变化。与 RFLP 不同的是，SSLP 具多等位性（multiallelic），每个 SSLP 都有多个长度不一的变异体。有以下两种类型的 SSLP 常用于作图：

（1）小卫星序列（minisatellite）：有时又称可变串连重复（Variable Number of Tandem Repeats，VNTR），其重复单位的长度为数十个核苷酸。

（2）微卫星序列（microsatellite）：或称简单串连重复（Simple Tandem Repeats，STR），其重复单位为 1～6 个核苷酸，由 10～50 个重复单位串连组成。Beckman 等曾计算过人类基因组一段 745 kp DNA 中微卫星序列的数目，平均每 6 kp 一个位点。人类基因组中，76%的重复顺序为 A、AC、AAAN、AAN 或 AG，丰度依次递减。作图中应用最广的重复顺序为 AG，主要分布在 5 和 3 非翻译区以及内含子中。大约 80%的 A、AAAN、AAN 重复顺序以及 50%的 AT 微卫星序列位于人类基因组 Alu 重复顺序的 3′端。人的 X 染色体平均每 300 kp～500 kp 有 1 个三核苷酸和 1 个四核苷酸微卫星序列，因其比二核苷酸微卫星序列更易分型，受到特别的重视（Hearne，1992）。

微卫星序列的应用较之小卫星序列的应用普遍得多，原因有二：其一，小卫星序列在基因组中的分布很不均匀，大多集中在染色体的端部，而微卫星序列在整个基因组中不仅分布广，而且密度高；其二，微卫星序列便于 PCR 分析，当 PCR 扩增的 DNA 长度少于 300 kp 时，反应既快速又精确。小卫星序列因其重复单位较长，加之许多重复顺序往往串接在单个顺序中，不利于 PCR 对样品的扩增。

微卫星序列的多态性信息量（Polymorphic Information Content，PIC）一般大于 0.75。PIC 可定义为某一标记在群体中出现多态性的频率。大多数微卫星序列均有 4 个或更多的等位型，50%以上的家庭其成员均有足够的微卫星序列多态性信息可供连锁分析。

虽然微卫星序列的功能还不清楚，但它却是遗传图与物理图研究中非常有用的工具。由于微卫星变异很大，在同一物种的不同个体中微卫星重复单位的数目有广泛的差异。微卫星序列中拷贝数的变化主要产生于 DNA 复制时出现的“滑序”事件，使重复单位的拷贝数增加或减少。这种变异使得人群中任何两人在若干位点微卫星的组合几乎都不相同。假如我们有可能检测每个人的微卫星序列，则可编制每个人独有的遗传档案（genetic profile）。

3. 单核苷酸多态性（Single Nucleotide Polymorphisms，SNPs）

基因组中单个核苷酸的突变称为点突变，理论上每个单核苷酸位置最多只有 4 种形式，即 A、T、C 和 G。某些群体在特定的单核苷酸位置只有 2 个或 3 个 SNP，这些位点称为双等位（biallele）或三等位（triallele）。在基因的编码顺序中，SNP 大多位于密码子的摇摆位置，表现为沉默突变而被大量保留下来。大多数 SNP 所在的位置不能被限制酶识别，必须采取测序或寡聚核苷酸杂交检测。据估计，人类基因组中位于基因内部的 SNP 超过 200 000，基因外部的点突变是基因内部的 10 倍甚至更多，总数在3 000 000左右（Collins 等，1997）。二倍体细胞中每个 SNP 最多只有两种等位型。与 RFLP 类似，SNP 在同一个体中常常会以纯合状态存在。对某一特定的 SNP，同一家系的成员可能有相同的基因型。尽管如此，SNP 仍具有 RFLP 所不可比拟的其他优点，如 SNP 在基因组中的数量极大，人群中几乎任何两个个体的基因组都有许多 SNP。

第三节　人类基因组研究

1920年德国科学家威克勒提出基因组（genome）一词，指真核生物从其亲代所继承的单套染色体，即染色体组。

1986年罗德里克提出基因组学（genomics）一词，用于概括涉及基因组作图、测序和整个基因组功能分析的遗传学学科分支。基因组学的创立得益于人类基因组计划（Human Genome Project，HGP）。人类基因组计划是人类基因组研究的第一阶段，在1990年随着人类基因组计划正式启动而开始，于2006年5月，随着最后一条人类染色体分析完成，标志着人类基因组计划已经完成。

为什么选择人类基因组进行研究？因为人类是在“进化”历程上最高级的生物，对它的研究有助于认识自身，掌握生老病死规律，疾病的诊断和治疗，了解生命的起源。

基因组学研究需要做三方面的工作：一是继续完成“结构基因组学”未完成的工作；二是开展功能基因组学研究；三是贯穿“结构—功能—应用”链，利用其整体式、综合式思维特点和高通量技术特点，与其他学科相结合，以产生“边缘效应”和“杂交”的优势，促进解决生物科学中的一些重大理论和实际问题。

人类基因组学研究包括以全基因组测序为目标的结构基因组学和以基因功能鉴定为目标的功能基因组学两方面的内容，突破了以往只注重单个基因（蛋白质）或少数基因（蛋白质）作用及相互关系的研究模式，使人类基因组、蛋白质作用整体式、综合式研究模式得到建立和发展。人类直接利用人类基因组计划的现有成果进入了后基因组学研究时代，即人类基因组学研究基因组学与医学、基因组学与疾病、基因组学与癌症、基因组学与免疫、基因组学与细胞功能、基因组学与学习记忆、基因组学与行为、基因组学与人类进化等重要课题的各个方面。特别是，基因组学与临床医学直接相关，其研究领域已涉及治疗、诊断、预防，高通量技术的应用更使基因组研究成果转化为临床应用。

1986年，美国生物学家、诺贝尔奖获得者雷纳托·杜尔贝科（Renato Dulbecco）在Science杂志上率先提出“人类基因组计划”（Human Genomic Project，HGP）。1990年10月，美国政府决定出资30亿美元正式启动“人类基因组计划”，预期到2005年拿到人体的全部基因序列（共约30亿个碱基对全序列），随后研究其相互作用和基因功能，从而揭开人类全部遗传信息之谜，使人类对自身的认识达到一个新的高度。人类基因组计划可以说是人类有史以来最为伟大的认识自身的世纪工程。此项计划的实现，将对全人类的健康、生命的繁衍产生无止境的影响。按照设想，碱基对测序完毕之后，科学家将分析碱基如何组成基因以及各种基因有什么功用等。弄清全部基因的位置、结构和功能，将为人类征服多种疑难病症铺平道路。“人类基因组计划”启动以后，欧洲、日本、前苏联、巴西、印度、中国迅速跟进，纷纷加入到此项意义重大的研究中。我国于1999年7月在国际人类基因组注册，得到完成人类3号染色体短臂上一个约30Mb区域的测序任务。该区域约占人类整个基因组的1%，简称“1%项目”。这标志着我国已掌握生命科学领域中最前沿的大片段基因组测序技术，在开发和利用宝贵的基因资源上已处于与世界发达国家同步的地位，在结构基因组学中占了一席之地。

那么，“人类基因组计划”到底为什么具有如此大的魅力，吸引了如此多的国家和众多的生物科学家参加到其中的研究呢？其实，对人类基因组的研究不仅仅是一项科学研究，它很可能暗含着21世纪最大的商机。

人类基因组计划被认为是人类最伟大的认识自身的科学探索之一，其意义甚至超过阿波罗登月计划，我们人类开始揭示隐藏在自身的奥秘，我们的生命和行为即将因为它而改变，它所带来的是一场生命的革命，同时，它将以前所未有的力量冲击人类的道德、伦理观念。

掌握了自身基因组奥秘的人类将不再畏惧过去闻之色变的各种“癌”，我们可以改变与生俱来的某些缺陷，我们甚至可以实现永葆青春。但是，我们又不得不担心，因为和掌握核能力一样，基因能给我们带来福音，也能给我们带来可怕的负面影响——重组基因可以改变人类固有的特征。

第四节　后基因组学

人体蛋白质约有100万种，在数量上远远超过人类DNA中的全部约三万个基因。这也表明人类与其他动物相比，在基因的蛋白质表达及其调控方面存在着明显的差异。人们要对这么多蛋白质进行识别，进而对它们的结构和功能进行研究，其工作量显然要比人类基因组测序工程大得多，这是人类面临的又一重大的生命科学工程——后基因组学。后基因组学主要包括比较基因组学、功能基因组学、蛋白质组学、转录组学和生物信息学等的研究内容。

一、比较基因组学

比较基因组学是比较不同生物基因组的研究，在基因组图谱和序列分析的基础上，对已知基因和基因的结构进行比较，了解基因的功能，表达调控机制和物种进化过程的学科。比较基因组学的重要研究领域是基因组比较作图。基因组比较作图的分子基础是物种间DNA序列尤其是编码序列的保守性。可利用保守性高的分子标记构建不同近缘属种的遗传图谱，比较这些标记在不同基因组中的染色体来源及其排列顺序，获得染色体重排信息，揭示染色体或染色体片段上同线性或共线性的存在，从而阐述各物种间染色体进化历史、古老物种的基因组结构及系统发育关系。与传统的细胞遗传学手段相比，它可提供丰富的基因组结构和进化历程信息，从而更好地了解基因组结构和进化历程。遗传图谱的比较研究必须需要质量较好、密度较高的遗传图谱作为参照图谱。另外，遗传图谱的比较研究还需要大量通用性好的分子标记，因为通用性好的分子标记构建的图谱才具有可比性。理想的用于比较作图的分子标记应具有的特点为：①直接来自于基因表达序列；②不同遗传背景（如杂交组合）下可进行信息传输；③共显性。目前用于基因组比较作图的标记主要有RFLP、SSR和EST等。

小鼠的基因组是第二个被破译的哺乳动物基因组。通过比较基因组学的研究得出，人类基因组序列与鼠有80%的相同，其中的基因有99%是相同的，只有几百个基因是人和鼠各自独有的。在这里简单介绍小鼠基因组测序。1999年，人类基因组三个主要测序中心（The Wellcome Trust Sanger Institute，The Whitehead Center for Genome Research 和 Washington University Genome Sequencing Center）成立了一个相互协作的小鼠基因组测序机构，取名为小鼠基因组测序协会（Mouse Genome Sequencing Consortium，MGSC），标

志着小鼠基因组测序项目正式启动。2002 年，MGSC 发展到 6 个国家的 26 个研究机构参与国际合作组织。2002 年 8 月，小鼠基因组测序协会绘制了 C57BL/6J 株系的小鼠基因组物理图谱，2002 年 12 月发表了其基因组序列草图，基因组大小约为 2.5 gb，比人类基因组小，预计的基因也少于30 000个。与人类相比，小鼠有更多繁殖、免疫和嗅觉基因，并且前两种基因的进化也比人类快得多。人与鼠，有着相近的基因数量、相似的基因结构，却有着迥然不同的表型与性状，这又一次很清晰地向我们表明非编码区（Non-coding Region）和基因调控（Gene Regulation）研究的重要性。通过比较基因组学的研究发现了一些有趣的现象，如人类的第 7 号染色体包含的序列大部分在鼠的基因组中存在，但是鼠中的同源部分分成了 19 段，分别位于 6 条不同的染色体。这样，比较基因组学解释了染色体的重新排列。事实上，至少在哺乳动物中，不同物种（包括人类）共享了大部分的 DNA 片段，所不同的是不同的物种的这些 DNA 片段的拼接方式不同。

众所周知，人的基因组也存在个体间的差异，人类遗传图谱比较研究个体间的差异，这些差异表现为单核苷酸多态（Single Nucleotide Polymorphism，SNP）、插入/删除片段（indel）、拷贝数变异、块替换和片段重复。综合所有变异，人的个体基因组之间的差异至少有 0.5%。这些差异在相当程度上决定了芸芸众生的千姿百态，例如人为什么有俊丑、高矮和胖瘦之分，为什么有的人对某些疾病易感，如心血管疾病、癌症、糖尿病、某些传染病等，而有些人则具有较强的抵抗力。中国的 HGP 在多民族基因保存、基因组多样性的比较研究中有优势。中国是世界上人口最多的国家，有 56 个民族和极为丰富的病种资源；并且由于长期的社会封闭，在一些地区形成了极为难得的族群和遗传隔离群；一些多世代、多个体的大家系具有典型的遗传性状，这些都是克隆相关基因的宝贵材料。人类不能忘记，在第二次世界大战时期，希特勒就曾经组织大量科学家研究如何“制造”出最优秀的纯种雅利安人，可当时的科学没有达到那一步的能力，但是，这种想法完全可能实现。令人担忧的是，由于科技的强大力量，人类不但可以复制某个人，还能像工厂生产玩具一样批量“生产”按顾客需要设计的，合乎数据规定的“人造人”。

随着人类基因图的构成，3 000多个人类基因已被精确地定位于染色体的各个区域。通过比较基因组学的研究可以发现疾病基因是最有用的价值，一旦某个疾病位点被定位，就可以从局部的基因图中遴选出相关基因进行分析。这种被称为“定位候选克隆”的策略，将大大提高发现疾病基因的效率。近来也有学者提出，用比较基因表达谱的方法来识别疾病状态下基因的激活或受抑。

二、功能基因组学

功能基因组学（Functional genomics）又往往被称为后基因组学（Postgenomics），它利用结构基因组所提供的信息和产物，发展和应用新的实验手段，通过在基因组或系统水平上全面分析基因的功能，使得生物学研究从对单一基因或蛋白质的研究转向多个基因或蛋白质同时进行的系统研究。这是在基因组静态的碱基序列弄清楚之后转入对基因组动态的生物学功能学研究。研究内容包括基因功能发现、基因表达分析及突变检测。基因的功能包括：生物学功能，如作为蛋白质激酶对特异蛋白质进行磷酸化修饰；细胞学功能，如参与细胞间和细胞内信号传递途径；发育学功能，如参与形态建成等。

基因的表达产品不仅包括 RNA，也包括由 RNA 编码的蛋白质。基因组的研究人员将各种基因表达的数据总体分别命名为各种组。包括：转录组（trangscriptom），即所有转录

子的序列和表达形式；蛋白组（proteome），即所有蛋白质的序列和表达形式；互作组（interactome），即蛋白质与DNA片段之间、蛋白质与RNA片段之间、蛋白质与蛋白质片段之间的物理相互作用的全部集合；表型组（phenome），即由基因组中所有基因的功能相互作用产生的表型集合的描述。

一个细胞的基因转录表达水平能够精确而特异地反映其类型、发育阶段以及反应状态，是功能基因组学的主要内容之一。为了能够全面地评价全部基因的表达，需要建立全新的工具系统，其定量敏感性水平应达到小于1个拷贝/细胞，定性敏感性应能够区分剪接方式，还需达到检测单细胞的能力。采用的手段包括经典的消减杂交、差示筛选、cDNA代表差异分析以及mRNA差异显示等，但这些技术不能对基因进行全面系统的分析，新的技术应运而生，包括基因表达的系统分析（Serial Analysis of Gene Expression，SAGE）、cDNA微阵列（cDNA microarray）、DNA芯片（DNA chip）和序列标志片段显示（sequence tagged fragments display）蛋白组技术以及基于转座子标签和T-DNA标签的反求遗传学技术等。

一项鉴定具有重要医药价值的人类基因的研究正在一个未曾预料的地方进行，这是位于格陵兰岛（Grennland）和斯堪的纳维亚（Scandinavian）之间、北大西洋中一个称为冰岛（Iceland）的偏僻岛屿。1997年，一位哈佛大学的遗传学家Kari Stefansson意识到冰岛人类基因库和家庭医疗记录的特殊意义，由于历史和地理隔离的原因，冰岛上的270 000居民为遗传学研究提供了独一无二的遗传资源。他们是1100年前定居在该岛的海盗的后裔，遗传组成相当均一。这种遗传均一性因发生2次遗传瓶颈而进一步强化，当时岛上的居民经历了急剧的人口递减。15世纪，由于淋巴腺鼠疫袭击该岛，冰岛人口由70 000人骤然降至25 000人。17世纪，因Hekla活火山的三次爆发造成的大火和由此引起的疾病使全岛人口再次降至50 000。因此，冰岛的人类基因库较之其他大多数的人口群体更加均一。此外，自1915年冰岛的国家健康服务部门即为每个家庭保留着良好的医疗记录。遗传学家Kari Stefansson决定回到他的故乡，宣布成立一家私人公司，即deCODE Genetics。该公司的目标是分离和鉴定人类基因，用于开发新的药物和诊断试剂。这家公司的第一个成功实验是鉴定出家族性必需震颤（familial essential tremor）基因，这是一种与老年人震颤相关的基因。此外，deCODE的科学家在其他人类缺陷疾病方面的研究也获得迅速进展。为deCODE分析研究提供遗传资料和DNA样品的人群可从私人公司的研究中获得个人利益。

三、转录组学

从遗传学研究可知，一些复杂的真核生物的基因组转录出来的总RNA可能有一半是内含子；从一个基因转录出来的RNA前体，通过不同的剪接方式选择性剪接形成不同的成熟mRNA，产生不同的蛋白质；mRNA的半衰期从几分钟到几小时不等。研究还发现，选择性剪接机制的建立对后生动物蛋白质组在进化中的扩展有着重要作用。转录组学（transcriptomics）研究细胞在某一功能状态下所含mRNA的类型与拷贝数。转录组就是转录后的所有mRNA的总称。与基因组不同的是，转录组的定义中包含了时间和空间的限定。同一细胞在不同的生长时期及生长环境下，其基因表达情况是不完全相同的。以DNA为模板合成RNA的转录过程是基因表达的第一步，也是基因表达调控的关键环节。所谓基因表达，是指基因携带的遗传信息转变为可辨别的表型的整个过程。换句话说，基因表达不仅仅是从转录组到蛋白质组的单向流动，而是两者的相互连接。对这种功能调控的了解通常只限于特殊的信号途径，或者是新陈代谢途径。要了解转录组和蛋白质组之间的相互调控作用，

需要对 RNA 和蛋白质的表达进行同步监测。例如，人类基因组包含有 30 亿个碱基对，其中大约只有 5 万个基因转录成 mRNA 分子，转录后的 mRNA 能被翻译生成蛋白质的也只占整个转录组的 40%左右。通常，同一种组织表达几乎相同的一套基因以区别于其他组织，如脑组织或心肌组织等分别只表达全部基因中不同的 30%而显示出组织的特异性。

目前的研究是通过分析细胞培养和细菌、酵母、小鼠以及人类的整体动物模型的 mRNA 和蛋白质丰度情况，来实现转录物和蛋白质表达的整体定量分析。因为转录物的数量可能要比基因的数量多 10 倍或者更多。采用的手段包括转录组学方面用拼接亚型；在基因组范围，微阵列为目标转录物提供了有限的丰度测量，微阵列靶子通常都是用 NIH 的基因序列数据库（GenBank）和 NCBI 参考序列（RefSeq）指示符进行注解。蛋白质和转录物表达之间的差异，可能会导致细胞的蛋白质组与转录组不一致。转录后，特殊序列或者是次级折叠结构可能会影响翻译率，后者可能影响 mRNA 衰退。与核糖体的装载和加工一样，这些转录后机制都将证明蛋白质合成中的变化。

研究基因转录表达不仅是为了获得全基因组表达的数据，以作为数学聚类分析，关键问题是要解析控制整个发育过程或反应通路的基因表达网络的机制。网络概念对于生理和病理条件下的基因表达调控都是十分重要的。一方面，大多数细胞中基因的产物都是与其他基因的产物互相作用的；另一方面，在发育过程中，大多数的基因产物都是在多个时间和空间表达并发挥其功能，形成基因表达的多效性。在某种意义上，每个基因的表达模式只有放到它所在的调控网络的大背景下，才会有真正的意义。

四、蛋白质组学

转录组学和蛋白质组学都是了解研究系统的生理化学状态的有用工具，即区别出真正的 mRNA－蛋白质一致性或者是不一致性。蛋白质组学（Proteomics）一词，源于蛋白质（protein）与基因组学（genomics）两个词的组合。这个概念最早是在 1995 年提出的，它最初被定义为“一个基因组所表达的蛋白质”。蛋白质组学对蛋白质组进行研究，可以说是对基因组研究（基因组学）的进一步深入，同时也是在生物大分子水平上揭示生命活动的本质所必需的。总的来说，蛋白质组比基因组更为复杂。mRNA 生成后，遗传信息由 mRNA 传递给新合成的蛋白质，即由核苷酸序列转换为蛋白质的氨基酸序列。而实际上，在一种生物中，基因组在绝大多数情况下都是恒定的，但它所表达的蛋白质却随细胞类型、组织、发育时间以及生理状况等的不同而改变。因此，蛋白质组这个概念是一个动态的概念，它本身也是一个动态的实体。此外，在转录水平上存在着 RNA 的加工，如剪接、编辑等，在翻译出蛋白质后也存在着翻译后的修饰（如糖基化、磷酸化）及加入其他辅基等。所以，一个基因有可能不只表达出一种蛋白质，蛋白质组内的蛋白质的数目也要多于其相应的基因组内的基因的数目。

目前，对蛋白质组的研究主要是分析蛋白质组中蛋白质的组成、结构及它们的功能，即包括一种细胞乃至一种生物所表达的全部蛋白质。蛋白质组本质上指的是在大规模水平上研究蛋白质的特征，包括蛋白质的表达水平、翻译后的修饰、蛋白与蛋白的相互作用等，由此获得蛋白质水平上的关于疾病发生、细胞代谢等过程的整体而全面的认识。例如测量蛋白质性质，误差模型如那些建立在像 RosettaResolver 或 RosettaElucidator 系统的产物，在转录组学分析之后进行定量的蛋白组学实验，废弃不可靠的定量测量将会减少假性前导物的量，尤其是在蛋白组学水平。总之，合成的蛋白质也可能会遭受翻译后修饰，这些修饰将管理蛋

白质的降解或分泌。哺乳动物昼夜节律钟的不一致就是时移不一致的一个例子，调节蛋白如Period（mPER）在蛋白质和转录物表达之间显示了4 h～8 h的延迟。总体不一致的一个例子是Ras/Akt信号在成胶质细胞瘤中显示出的不一致，其中总mRNA变化很小。更多的变化发生在翻译起始的核糖体装载期间，依次更改了蛋白质性质。如一个使用更广泛的工具是EBI的国际蛋白索引（IPI），该索引是蛋白组根据电荷态预测的一致性，可以用算法去评定MS/MS谱，离子流量和信噪比可能会有助于数据外存储器的自动选择，以便在基因组数据库中进行BLAST搜索。在两个流程之间也能进行肽段的翻译后修饰研究。

蛋白质组的研究不仅能为生命活动规律提供物质基础，也能为多种疾病机制的阐明及攻克提供理论根据和解决途径。通过对正常个体及病理个体间的蛋白质组比较分析，我们可以找到某些“疾病特异性的蛋白质分子”，它们可成为新药物设计的分子靶点，或者为疾病的早期诊断提供分子标志。确实，那些世界范围内销路最好的药物本身就是蛋白质或其作用靶点为某种蛋白质分子。因此，蛋白质组学研究不仅是探索生命奥秘的工作，而且能为人类健康事业带来巨大的利益。

五、生物信息学

生物信息学是20世纪80年代末随着人类基因组计划的启动而兴起的一门新的交叉学科。生物信息学已经成为基因组研究中强有力的必不可少的研究手段。一般来说，生物信息学（Bioinformatics）所处理的对象是大规模的生物学数据。这些数据可以是基因型和表型资料，可以是核苷酸或氨基酸序列，也可以是蛋白质的结构、功能或者表达数据。生物信息学所涉及的领域十分广泛，除了生物学或遗传学以外，还涉及应用数学、信息学、统计学、计算机科学、人工智能、化学和生物化学等，因此是一种跨多学科的研究。

生物信息学又称为计算生物学，它的研究内容广泛，并经常与系统生物学重叠。概括起来，生物信息学的研究内容大约包含如下几个主要方面：①基因组序列对比；②基因寻找；③基因组组装；④蛋白质结构对比；⑤蛋白质结构预测；⑥基因表达预测；⑦蛋白质－蛋白质互作预测；⑧演化建模等。由此可见，生物信息学不只提供数据库和工具，它还尝试给出许多生物学对象的解释。它所关系的也不只在技术层面，更包括原理。

上述的几个方面又分别属于比较基因组学、功能基因组学、蛋白组学和转录组学等的研究内容。这几个研究领域相互之间也存在着千丝万缕的联系。

最初的生物信息学的研究主要集中在序列对比，现在这样的研究仍然占很大比重。如人类基因组的组装也是生物信息学最伟大的成就之一。到目前为止，已经测出了上百种生物体的完整基因组序列。如何分析这些从实验过程中获得的大量原始数据，并从中获得与生物结构、功能相关的有用信息呢？

生物信息学在人类基因组计划中的应用在于，生物信息学是以计算机为主要工具，开发各种软件，对日益增长的DNA和蛋白质的序列和结构等相关信息进行搜集、储存、发行、提取、加工、分析和研究，同时建立理论模型，指导实验研究，它由数据库、计算机网络和应用软件三大部分构成，在基因组计划中发挥着不可替代的作用。

HGP的目的之一就是找到人类基因组中的所有基因。除功能克隆和定位克隆策略之外，生物信息学为分子生物学家提供了一条寻找和研究新基因的新思路，即从高度自动化的实验出发，经过数据的获取与处理、序列片段的拼接、可能基因的寻找、基因功能的预测一直到基因的分子进化研究。这个过程的每一个环节，都是生物信息学研究的重要内容。

1. 高度自动化的实验数据的获得、加工和整理

如何将实验室中得到的生物学信息转化为计算机能够处理的数字信息，是生物信息学的一个重要课题。这种转化大量地体现在各种自动化分子生物学仪器的应用上，如 DNA 测序仪、PCR 仪等。这类仪器将实验所得的物理化学信号转化为数字信息，并对其作简单分析，再将分析结果用于实验条件的控制，完成高度自动化的实验过程。从事大规模 EST 测序和 DNA 物理图谱构建的实验室都已建立起高度自动化的机器人系统来完成大部分的实验工作。

伴随着实验过程的高度自动化甚至工厂化，从事大规模分子生物学项目的实验室，每天需要存储的数据可以轻易地超过几千兆字节。这样大的数据量必须用专门的实验室数据管理系统进行处理，以自动完成包括实验进程和数据的记录、常规数据分析、数据质量检测和问题的自动查找、常规的数据说明和数据输入数据库在内的各项工作。由于不同实验室需处理的数据类型各不相同，目前各个实验室都是各自开发自己的系统，还没有成熟的可用于不同实验室的分子生物学数据管理系统。但随着测序逐渐成为实验室的常规工作，对这种系统的需求会越来越大，此类系统的发展将成为大势所趋。

2. 序列片段的拼接

目前，DNA 自动测序仪每个反应只能测序 500 bp 左右。如何将这些序列片段拼接成完整的 DNA 顺序，就成为接下来的一个重要工作。传统的测序技术通常将克隆进行亚克隆，并对亚克隆进行排序。这些工作需要大量的人力物力。现在生物信息学提供了自动而高速地拼接序列的算法，即根据 Lander－Waterman 模型利用鸟枪法进行测序，再将大量随机测序的片段用计算机进行自动拼接。这种技术不仅避免了亚克隆排序所需的大量繁琐的工作，还使序列具有一定的冗余性（redundancy，即一定数量的重复），以保证序列中每个碱基的准确性。

序列拼接算法的进一步发展，需要在以下方面进行改进：①将已知的基因组知识应用于拼接算法，以进一步提高拼接真核基因组的有效性；②自动处理测序所造成的差错，特别是对有差错倾向的 EST 顺序更是如此。

3. 基因区域的预测

在完成序列的拼接后，我们得到的是很长的 DNA 序列，甚至可能是整个基因组的序列。这些序列中包含着许多未知的基因，下一步就是将基因区域从这些长序列中找出来。所谓基因区域的预测，一般是指预测 DNA 顺序中编码蛋白质的部分，即外显子部分。不过目前基因区域的预测已从单纯外显子预测发展到整个基因结构的预测。这些预测综合各种外显子预测的算法和人们对基因结构信号（如 TATA box 和加尾信号）的认识，预测出可能的完整基因。

4. 基因功能预测

实验手段证实一个预测的新基因后，下一步要做的就是寻找这个基因的功能。生物信息学为此提供了一系列方法，使我们的研究能够有的放矢。

（1）序列同源比较。

序列同源比较往往是得到新基因后预测其功能的第一步。通过同源比较来预测基因功能是基于这样一个假设：如果基因 A 与基因 B 有相当的同源性，那么基因 A 可能具有类似基因 B 的功能。利用同源比较算法，将待检测的新基因序列到 DNA 和蛋白质序列数据库中进行同源检索后，我们可以得到一系列与新基因同源性较高的基因或片段。这些基因和片段的已知的功能信息就为进一步研究新基因功能提供了具有相当参考价值的导向。

（2）同源比较的发展方向。

用于将序列在序列数据库中进行同源比较的 3 种流行的算法是 Smith－Waterman 算法、FASTA 算法和 BLAST 算法，它们有各自的优缺点。面对飞速增加的数据库数据，如何同时获得高敏感性和高速度仍然是一个课题。同源比较算法中另一个需要继续发展的方面是同源比较算法中使用的计分矩阵的完善，特别是间隔的计分方法的研究。研究证明，使用更好的计分矩阵能够使算法的敏感性显著提高。

（3）寻找蛋白质家族保守顺序。

通过同源检索，我们可以推测待检的新基因是否是某个蛋白质家族的新成员，下一步就是寻找新基因中包含的该蛋白质家族的保守序列，这样也就为进一步深入研究其功能作好了准备。

多序列同源比较，或称为多序列比对（multiple-sequence alignment），是将多个序列进行同源比较以发现其共同的结构特征的方法，被广泛用来寻找基因家族或蛋白质家族中的保守部分。Feng－Doolittle 算法是较常用的多序列对齐算法，其他的新算法包括 HMM 方法、Gibbs sampling 以及处理多结构域蛋白质家族的算法。由于保守部分往往与家族成员的功能密切相关，所以通过这些方法建立蛋白质家族数据库，能够帮助科学家更好地认识基因的功能。这些数据库可以帮助我们把新基因所属的蛋白质家族及其保守部分找出来，并提供这个家族其他成员的结构和功能信息。

（4）蛋白质结构的预测。

有时一个可能的新基因通过同源检索找不到任何同源基因，这种序列就称为“孤儿”基因。生物信息学也提供了一些预测“孤儿”基因功能的方法，即通过基于结构的同源比较（structure-structure alignment）寻找结构同源的基因或直接预测其高级结构来推测其可能的功能。有许多蛋白质高级结构数据库提供结构同源比较的检索。另外，直接预测基因产物的高级结构的算法现在已经有不少，然而，由于蛋白质的折叠结构实在太复杂，使得计算最佳构象非常困难。如果结构生物学在这方面的研究能够有所突破，无疑将大大推动基因功能的预测。

5. 分子进化的研究

通过上述种种方法，我们可以预测出一个新基因的可能具有的功能。然而预测新基因只是生物信息学研究的一个方面，这门学科的根本目标是探究隐藏在生物数据后面的生物学知识。对于基因组研究来说，一个重要的研究方向就是分子序列的进化。通过比较不同生物基因组中各种结构成分的异同，可以大大加深我们对生物进化的认识。这一类的研究已逐步形成一个称为比较基因组学的新学科。从各种基因结构与成分的进化，密码子使用的进化，到进化树的构建，各种理论上和实验上的课题都等待生物信息学家的研究。

《第三次技术革命》中写到：“一场与工业革命和以计算机为基础的革命有相同影响力的变化正在开始。下一个伟大时代将是基因组革命时代，它现在处于初期阶段。”生物信息学研究在各发达国家中比较受重视，国外很多大学、研究机构、软件公司甚至政府机构纷纷成立各种生物信息机构，建立自立的生物信息集成系统，研制这方面的软件，重金招聘人才，期望从中获取更多的生物信息和数据加以研究和利用，缩短药物开发周期，抢注基因专利，获取更大利润。在我国，生物信息学随着人类基因组研究的展开才刚刚起步，但已显露出蓬勃发展的势头。许多科研单位已经开始或准备开始从事这方面的研究工作。北京大学的研究所建立起一个 EMBL 的镜像数据库，并提供数据检索服务；在复旦大学遗传学研究所，为

克隆新基因而建立的一整套生物信息系统也已初具规模；中科院上海生化所、生物物理所等在结构生物学和基因预测研究方面也有相当的基础；中科院计算所作为我国计算机科学的顶尖机构，利用自身优势，也开始在生物信息方面投入了大量的人力物力，从事相关的研究。

思考题

1. 简述人类基因组的组织结构和 DNA 标记。
2. 人类基因组及后基因组研究的意义是什么？

（丁显平　钟红梅）

第十三章 人类遗传与优生的实验诊断

第一节 细胞遗传学技术

一、外周血淋巴细胞培养及染色体制备技术

这里的外周血淋巴细胞主要是指外周血中的T淋巴细胞，它能在非特异性有丝分裂原（mitogen）作用下转化为淋巴母细胞，继而进行有丝分裂。外周血细胞的培养方法通常有两种：一种是从全血中分离出淋巴细胞培养，此法操作繁琐，不易被普遍接受；另一种方法是微量全血培养法，此法需血量少，操作简单，设备要求低，已被广泛采用。下面介绍微量全血培养法。

（一）培养基的准备

可以自制或采用商品化试剂盒。现介绍试剂盒方法：将试剂盒打开，取出培养基及配套的溶解剂瓶；在培养基及溶解剂瓶铝帽上开一小孔，依次用碘酊及酒精进行常规消毒，在酒精灯焰旁用无菌注射器抽取溶解剂5.0 mL，注入培养基瓶内，同时自然排出5 mL气体，振摇使培养基完全溶解。

（二）采血接种

常规抽取静脉血0.5 mL，立即注入到培养基瓶内，混匀，置37 ℃孵箱中培养。

（三）培养

培养72 h，并每天将培养瓶振摇1～2次，在终止培养前2 h～4 h，每小瓶培养物中加入试剂盒中的秋水仙素0.1 mL～0.2 mL，混匀，继续培养到收获。

（四）收获

1. 离心

将培养物转入刻度离心管内，以1 000 rpm离心10 min，弃上清液，留下沉淀物。

2. 低渗

在每只离心管中加入预温到37 ℃的低渗液（0.075 mol/L KCl）8 mL，用吸管轻轻吹打细胞混匀，置入37 ℃水浴箱中低渗30 min。

3. 预固定

低渗时间到了以后，在每只离心管中加入固定液1 mL～2 mL，混匀（固定液为甲醇：冰醋酸为3∶1，宜新鲜配制）。1 000 rpm离心10 min，弃上清液，保留沉淀细胞。

4. 第一次固定

每只离心管中加入新鲜固定液 8 mL，并将细胞充分混匀，在室温中固定 30 min～40 min。1 000 rpm 离心 10 min，弃上清液。

5. 第二次固定

每只离心管中加入新鲜固定液 8 mL，轻轻混匀，置室温 20 min～30 min，1 000 rpm 离心 10 min。弃上清液，留沉淀物，再加入少许固定液（通常加到 0.2 mL～0.5 mL 刻度），轻轻吹打混匀。

6. 滴片

用气干法滴片，即用吸管吸取细胞悬液，滴 2～3 滴于事先用冰水浸泡的洁净载玻片上，用口吹散并在酒精灯火焰上通过 3～5 次，编号，放入 37 ℃孵箱中或 56 ℃烤箱中烘片。

7. 显带

染色体显带方法较多，主要有 G、C、Q 或 T 显带技术。如果该标本片用做 FISH 等，则不需显带；若用做核型分析，则必须显带。下面着重介绍 G 显带和 C 显带方法。

（1）G 显带方法。

①将染色体玻片置 56 ℃烤箱过夜或 37 ℃孵箱老化 2～3 天。

②将 10 mg 胰蛋白酶加到 50 mL 0.85%NaCl 溶液或 D－Hank′s 液中，配成 0.02%的胰蛋白酶溶液。用 5.0%$NaHCO_3$ 溶液调 pH 到 6.8～7.0。

③将胰酶溶液和另外两杯（缸）生理盐水同时放入 37 ℃水浴箱中。

④消化：将染色体玻片置入胰蛋白酶消化液中，4 s～6 s 后，立即取出，并依次在另两杯（缸）生理盐水中荡洗几次，以去除剩余的胰酶消化液。

⑤染色：将消化好的染色体片置入 10%Giemsa 染色液中染色 5 min～10 min。

⑥取出后用自来水冲洗，待晾干后镜检。

标本的质量直接影响着显带，分裂相的多少除了与培养液质量有关外，还与在整个制片过程中的染色体的丢失有关。染色体分散的好坏与低渗及滴片有关。染色体的着色情况及带纹的清晰程度与 Giemsa 染液的质量和浓度有关。显带的好坏与胰酶的效价、浓度、消化时间和 pH 值有关。同时，染色体玻片未完全烤干也会影响显带的效果。

（2）C 显带方法。

①将染色体玻片置入 0.2 mol/L 的 HCl 中，1 h 后取出，用蒸馏水冲洗。

②将玻片浸入预热到 50 ℃ 5%的 $Ba(OH)_2$ 溶液中 2 min～3 min，取出后用蒸馏水冲洗。

③再将玻片浸入预热到 60 ℃的 2×SSC 溶液中 1.5 h，取出后用蒸馏水冲洗三次。

④用 5%的 Giemsa 染液染色 10 min～15 min，用自来水冲洗，待晾干后镜检。

（五）微细胞遗传学技术

微细胞遗传学是运用高分辨染色体显带技术研究染色体细微结构及结构改变后的遗传效应的学科。高分辨染色体显带技术是在细胞有丝分裂早中期或晚前期制备染色体标本，可以显示出 550 条以上的清晰、细微的带纹，可以发现常规染色体 G 显带不能发现的染色体的细微异常。高分辨染色体制备技术方法颇多，但大都较为繁琐，现介绍我们长期使用的简单方法：

按前面的方法进行外周血淋巴细胞接种培养，37 ℃培养 67 h～70 h 后加入溴乙啶（EB），使终浓度为 5 μg/mL，在收获前 30 min 加入秋水仙素（终浓度为 0.5 μg/mL），最后按常规方法收获、制片、显带，可获得 550～850 条带的高分辨率染色体标本进行染色体

分析。

二、羊水细胞培养及染色体制备技术

20 世纪 60 年代以来，随着组织培养技术的发展，羊水细胞培养在世界上首次获得成功，给遗传性疾病的产前诊断开辟了一个新的领域。1977 年，我国报道了第一例羊水细胞培养法，此后又陆续报道了一些羊水细胞培养及染色体制备技术。近三十年来，我国的计划生育政策作为基本国策提上日程，优生优育问题受到了人们的高度重视。因此，用于产前诊断的羊水细胞培养显得更加重要。

羊水细胞主要源于胎儿皮肤、消化道、尿道、呼吸道等脱落细胞。这些细胞大部分是衰老和固缩的，所以羊水细胞培养技术较其他组织培养更为困难。尽管世界各地在羊水细胞培养及染色体制备方法上已有不断改进，但由于羊水细胞培养的成功率不高，很多单位尤其是设备、技术落后的基层单位无法开展该项目的检查。作者针对这些问题，在四川省计生委的支持下，研制出了配套的、质量稳定的羊水细胞培养试剂盒，解决了这一难题。

（一）羊膜腔穿刺的时间

许多资料上介绍的最理想的时间是 16～20 周，作者认为 16～24 周均可，此时间内，胎儿已较大，一般可确定出胎儿的大致位置，羊水量也较多，一般都在 250 mL 以上。抽取 20 mL左右的羊水，对胎儿和母体不会有影响。此时羊水代谢活跃，增长快，被抽出的羊水可很快得到补充，这样对胎儿的外环境不会造成大的变化。

（二）羊水的抽取

在 B 型超声波仪器监视下，确定胎盘和胎头位置，抽取羊水 15 mL～20 mL，注入无菌、带盖的离心管内，供羊水细胞培养用。

（三）羊水细胞培养及染色体制备

1. 培养基的准备

打开羊水细胞培养试剂盒，取出培养基及配套的溶解剂，在培养基及溶解剂瓶铝盖上打一小孔，依次用碘酊和酒精常规消毒，用无菌注射器准确抽取溶解剂 5.0 mL，注入培养基瓶内，振摇待培养基溶解后，抽取 2 mL～3 mL 转入方形培养瓶内，剩余培养液置 4 ℃冰箱保存，待换液时使用。

2. 培养

将抽取的羊水 15 mL～20 mL，贮入无菌离心管中，以1 000 rpm 离心 10 min，吸除上清液留沉淀 1.0 mL，用吸管轻轻吹成悬液，转入培养瓶中，塞紧瓶口，置 37 ℃恒温箱中静置培养。

3. 换液

培养至 5～7 天时，观察细胞的贴壁生长情况，此时可见大量的羊水细胞贴壁生长。倒去培养瓶中的旧培养液，加入接种时剩余的培养液（从冰箱中取出后应恢复到室温）2 mL，置孵箱中继续培养。

4. 收获

换液后，每天观察细胞生长情况，在 10×10 倍镜下看见有较大的细胞“克隆”（通常覆盖整个视野），并有 10 个及以上球形发亮的分裂相细胞，即可收获制片。在终止培养前 3 h～6 h 加适量（一般 5 号针头 2～4 滴）秋水仙素溶液。

5. 制片步骤

①将培养瓶中的培养液倒去，加 EDTA－胰酶消化液 2 mL，置 37 ℃恒温箱中 5 min，滴管吹打 3～4 次，使贴壁细胞全部洗下来，然后把消化液吸到刻度离心管中，再用 0.85% 生理盐水 2 mL 冲洗培养瓶内残留细胞后亦倒入刻度离心管中。或者不倒去培养液，直接用刮削器轻轻刮下所有贴壁细胞，然后用弯头吸管冲洗瓶壁，以便洗下所有贴壁细胞，将细胞悬液吸至离心管中。

②离心（800 rpm～1 000 rpm）8 min～10 min，弃上清液，留细胞沉淀 0.1 mL～0.2 mL。

③低渗：先加预温到 37 ℃的低渗液（0.4%枸橼酸钠与 0.4%KCl 液 1∶1 混合）4 滴，用吸管轻轻冲吸 2～3 次或吹气泡冲匀，然后再加低渗液至 1 mL，混匀，37 ℃低渗 5 min。最后加固定液（甲醇∶冰醋酸为 3∶1）7 滴，轻轻用气泡冲匀，离心（800 rpm～1 000 rpm）8 min～10 min，弃上清液，留沉淀 0.1 mL～0.2 mL。

④第一次固定：加新配固定液 2～3 滴，用手指轻轻击离心管底部，使细胞混匀，再加固定液 4 mL，轻轻以气泡吹匀，固定 40 min。离心（800 rpm～1 000 rpm）8 min～10 min，弃上清液，留沉淀 0.1 mL～0.2 mL。

⑤第二次固定：方法同第一次固定，固定液改为 2 mL，固定时间为 20 min。

⑥滴片：离心，弃上清液，加新鲜固定液 2～3 滴，用手指轻击离心管底部，使成细胞悬液后，用气干法滴片 2～3 张。将玻片置 56 ℃烤箱烘烤 24 h，即可显带。

⑦显带：显带方法和外周血染色体标本基本相同，所不同的是用胰酶消化染色体的时间较外周血稍长。一般来讲，羊水染色体用 0.02%胰酶溶液需消化 10 s～30 s。

（四）羊水细胞培养中存在的问题

1. 污染

羊水细胞培养时间较长，在整个操作过程中稍微疏忽就可能被细菌、病毒、支原体污染。因此，器皿灭菌后，从抽取羊水、接种培养、换液，直到最后收获前都应严格无菌操作，严防污染。

2. 细胞不贴壁、不生长

造成羊水细胞不贴壁、不生长的原因很多。作者认为，培养瓶清洗不洁，瓶壁残留有污垢，是羊水细胞不贴壁生长的常见原因。还有支原体污染，也是造成羊水细胞不贴壁、不生长的重要原因。另外，培养基 pH 不当，低于 6.4 或高于 7.4，细胞都不会生长。羊水中细胞太少或活细胞太少，也不易生长。

3. 母体细胞污染

羊水穿刺过程中，母体细胞污染机会是存在的。若造成了母体细胞的污染，后果是相当严重的。因此，最好在每次穿刺时，把最先抽得的 1 mL～2 mL 羊水弃掉，以减少母体细胞的污染。有条件的单位，可用染色体多态现象的测试以排除母体细胞的污染，或者用羊水细胞和母体细胞的 HLA 定型鉴别。

（五）羊膜腔穿刺的适应证和禁忌证

1. 适应证

（1）孕妇年龄超过 35 岁以上者。

（2）已生过 21 三体患儿及有相应家族史者。

（3）有染色体异常儿家族史或父母一方有染色体异常者。

（4）疑有性连锁遗传疾病者。

（5）已生过开放性神经管缺陷儿史者。

（6）有畸形儿、痴呆儿家族史及近亲结婚者。

（7）羊水过多及有习惯性流产史者。

（8）妊娠三个月内曾有病毒感染或长期大量服用不适当的药物或接触 X 射线和毒性物品者。

2. 禁忌证

孕周小于 14 周，穿刺的成功率较低；大于 26 周，羊水培养的成功率也较低，故不宜做此手术；此外，在先兆流产、习惯性流产的危险期不适于做羊水穿刺，否则将增加流产率，故应尽量避免。

三、妊娠早期绒毛细胞染色体标本的制备

近年来，用绒毛为材料进行早期产前诊断，由于其操作技术简易、快速、准确，对孕妇损伤小，已成为优生学和预防医学的一个新方向。

绒毛滋养层细胞是受精卵有丝分裂的衍生物，准确地反映了胎儿的遗传特性。妊娠早期的绒毛细胞有较高的有丝分裂活性，可以作为早期检出胎儿的染色体异常的材料。所以，利用绒毛进行染色体病的产前诊断，是当前的重要方法之一。

（一）绒毛的取材

选择 6～10 周产前诊断适应证的孕妇；查明子宫位置、大小和胚胎着床的可能部位，在 B 超指示下吸取或盲吸；用长 210 mm、直径 1.5 mm～2 mm 的塑料管，在卵圆钳的帮助下，由宫颈口进入宫腔，以 5 mL～10 mL 的负压吸取胚胎着床部位附近的叶状绒毛（以上操作均需无菌操作）；取样后，标本立即放入含双抗的 RPMI1640 或 Hank's 液中，漂洗 2～3 次，供绒毛直接制备染色体标本或绒毛细胞培养用。

（二）绒毛的识别

使用前首先确认为绒毛组织，并取绒毛组织置载玻片上，在显微镜下辨认，绒毛组织的特点是：①绒毛组织一般呈鹿茸状分枝；②绒毛枝的周围，一般由合体细胞和微绒毛枝组成平滑、无色的透明带；③一般绒毛组织，中央可见到褐色、极细的毛细血管。如果镜下辨认非绒毛组织特征，似蜕膜组织，需重新取材。

（三）绒毛细胞的染色体制备

绒毛细胞染色体制备的方法主要有直接制备法和培养法两种。而不同实验室所采用的无论是直接法还是培养法又不完全相同。下面介绍几种常用的方法。

1. 哈尔滨医科大学遗传研究室方法

①将所吸取的绒毛，用 D－Hank's 溶液或生理盐水反复冲洗，去除血污。

②置入含有 5 mL 无血清的 RPMI1640 培养液的离心管中，加秋水仙素（终浓度为 1 μg/mL培养液），混匀后置 37 ℃水浴箱中温育 18 min～20 min。

③吸出培养液，加入 0.4%KCl 和 0.4%枸橼酸钠等量混合的低渗液 8 mL，37 ℃低渗 10 min～12 min。

④加入 2 mL 新配固定液（3 份甲醇：1 份冰醋酸），室温下预固定 3 min。

⑤吸尽所有液体，立即加入70%醋酸1 mL，静置解离细胞1 min～2 min后，立即加入2 mL甲醇，混匀。然后继续缓慢加入甲醇－冰醋酸固定液5 mL，重复固定30 min。

⑥离心（1 200 rpm）8 min，去上清液。再加入5 mL固定液，重复固定30 min。

⑦用吸管轻轻吹吸细胞悬液后，挑去绒毛支架，离心，去上清液。

⑧加入数滴固定液，用吸管轻吹气泡使细胞呈悬液后，用冰湿片滴片，将玻片标本置37 ℃老化48 h。

⑨G显带。用D－Hank's液配制的0.0625%胰酶工作液（10 mL 0.25%胰酶原液+40 mL D－Hank's液，pH值为6.2），37 ℃预温后，将玻片标本置入处理4 min～6 min。

⑩在37 ℃生理盐水中轻轻漂洗后，姬姆萨染液染色8 min，用自来水冲洗，待晾干后镜检。

2. 河北省医院朱俊真方法

取绒毛10 mg左右，直接放入预温37 ℃低渗液（1%枸橼酸钠内含秋水仙素0.1 μg/mL～0.4 μg/mL）5 mL，混匀，低渗30 min。预固定加甲醇－冰醋酸（3∶1）1 mL，混匀5 min。更换新鲜固定液置室温固定30 min。然后弃去固定液，顺管壁加入60%冰醋酸1 mL，1 min～2 min后，由管底部缓缓加入甲醇3 mL，然后轻轻混匀，10 min（在固定5 min时用滴管把绒毛挑出）后离心5 min，去上清液。再加入新鲜固定液2～3滴，轻轻混匀，以冰片进行滴片，立即放入60 ℃烤箱烘烤16 h～24 h或37 ℃放置72 h。自然冷却后即可显带。

3. 绒毛细胞悬浮培养法

① 培养基的准备：在培养基及配套的溶解剂瓶铝帽上打一小孔，常规消毒，用无菌注射器抽取溶解剂6.0 mL注入培养基瓶内，振摇使其完全溶解，备用。

②培养方法：取绒毛约10 mg左右，用含双抗的无菌D－Hank's液（pH值为7.2～7.4，青、链霉素各100 u/mL），反复冲洗，去除血污，吸去D－Hank's液。经低倍镜下鉴定为绒毛后，用眼科手术小剪剪成小枝或小块，放入25 mL组织培养瓶内，加入上述已溶解好的培养液3.0 mL（余下的3.0 mL培养液置4 ℃冰箱内保存，待换液时使用）。盖上瓶帽（塞），置37 ℃下培养3～10天（在培养到5天左右时换液一次，培养的具体时间由用户根据各实验室的情况及绒毛标本的数量和质量而定。据作者的体会，一般培养3～6天即可获得足够而良好的分裂相细胞供分析）。在收获前2 h加入秋水仙素0.1 mL，继续培养到收获。

③收获制片：将绒毛培养物吸入离心管中，弃去培养液，加入低渗液（0.4%柠檬酸钠与0.4%KCl液1∶1混合）8.0 mL，混匀，37 ℃低渗10 min～15 min，去低渗液，加入新鲜固定液（甲醇∶冰醋酸为3∶1）5.0 mL，固定10 min，如此重复3次。去固定液，用40%冰醋酸0.5 mL，37 ℃处理约1 min，见绒毛枝周围出现明显乳白色浑浊时，缓慢加入固定液（甲醇∶冰醋酸为5∶1）2.0 mL，轻轻混匀，离心（1 000 rpm）5 min，弃上清液，加新鲜固定液（甲醇∶冰醋酸为3∶1）3～4滴，轻轻混匀，用气干法滴片，56 ℃烘烤24 h，自然冷却后即可G显带。

4. 绒毛细胞的贴壁培养

①培养基的准备：同上。

②培养方法：取绒毛适量，用含双抗的无菌D－Hank's液（pH值为7.2～7.4，青、链霉素各约100 u/mL）反复冲洗，去除血污，吸D－Hank's液，在低倍镜下确认为绒毛后，用无菌镊将绒毛夹入10 mL无菌离心管中，用小剪剪碎，加入0.25%胰酶（已除菌，试剂盒中配

备有1支）2 mL～3 mL，用吸管吹打，置37 ℃水浴中孵育5 min，以3 000 rpm离心5 min，弃上清液（尽量将上清液吸干），留沉淀。加入上述准备好的培养液1 mL，反复吹打，使细胞尽可能分散，将细胞悬液吸入25 mL方形培养瓶中，再补加3.0 mL培养液（余下的2 mL培养液置4 ℃冰箱中保存，待换液时使用），置37 ℃培养。通常24 h可见大量细胞和组织块贴壁，4天以后就可以选择时机收获制片（如果培养时间超过5天，中间可换液1次）。

③收获及制片过程和羊水细胞培养基本相同。G显带过程和直接法相同。

（四）绒毛细胞染色体制备应注意的问题

绒毛标本直接制备染色体最突出的问题是细胞分裂相少，染色体形态不佳，如染色体分叉和弯曲等。培养法可基本解决这些问题，但操作繁琐，还可能会出现母体蜕膜细胞的污染。所以，绒毛的选择和识别非常重要。但根据作者的实践和邓汉相等人的报告，绒毛细胞的悬浮培养可避免母体细胞的污染。因此，作者建议，在条件允许的情况下，可普及推广悬浮培养法。

四、胸、腹水及骨髓细胞的染色体制备方法

胸、腹水及骨髓细胞的染色体检查，是一种鉴别诊断恶性肿瘤的有效方法。当发现有染色体数目和结构异常时，很可能是恶性肿瘤的标志。胸、腹水及骨髓细胞的染色体检查方法较多，但仍然可分为直接法和培养法两种。

（一）腹水及骨髓细胞的染色体制备方法

1. 直接法制备胸、腹水染色体

①取新鲜胸腹水20 mL～40 mL置于无菌尖嘴离心管中，离心（1 000 rpm）10 min，弃上清液，留沉淀0.3 mL～0.5 mL，然后轻击管底使细胞团松开。

②加入37 ℃预温的培养液（TC199或RPMI1640均可）或D-Hank's液10 mL，混匀。

③加秋水仙素0.1 mL，37 ℃孵育1 h～5 h。也可在抽取的新鲜胸、腹水中直接加入秋水仙素0.1 mL，然后在37 ℃中孵育1 h～5 h。

④离心（1 000 rpm）10 min，弃上清液，加入37 ℃预温的0.075M KCl低渗液，于37 ℃下低渗5 min～10 min。然后加入固定液（甲醇：冰醋酸为3：1）1 mL，轻轻混匀。

⑤离心（1 000 rpm）5 min～10 min，弃上清液。

⑥固定两次，滴片、染色等与外周血染色体制备完全相同。

2. 培养法

①培养基准备：在培养基及溶解剂瓶铝帽上打一小孔，常规消毒，用无菌注射器抽取溶解剂5 mL注入培养基瓶内，同时排出5 mL气体，振摇使培养基溶解。

②接种培养：抽新鲜胸、腹水10 mL～20 mL置于无菌尖底离心管中，离心（1 000 rpm）8 min～10 min，弃上清液，留沉淀0.5 mL～1.0 mL，用吸管轻轻吹成悬液，然后用无菌注射器将此悬液注入上述培养基瓶中，混匀后立即置37 ℃孵箱培养24 h～72 h。在终止培养前2 h加入秋水仙素0.1 mL，混匀，继续培养到收获。

③收获及制片步骤和外周血基本相同。

（二）骨髓细胞的染色体制备

1. Hozier等人的直接制备方法

①用肝素润滑后的注射器从髂骨抽取骨髓0.2 mL～0.5 mL，立即注入10 mL温育液中

(0.075 mol/L KCl：0.25%胰蛋白酶－EDTA 液为 9：1，最后按终浓度为 0.08 μg/mL 温育液的浓度加入秋水仙素)，混匀后置 37 ℃孵育 20 min。

②离心（1 200 rpm）5 min。

③用 3：1 的甲醇－冰醋酸置室温固定 20 min。

④离心，弃上清液，再换新鲜固定液数次，每次 5 min。

⑤气干法滴片，用微火加温以助分散。

⑥瑞氏染液染色 1.5 min～4 min，不预先消化处理。

瑞氏染液的配制和染色：用甲醇配制 25 mg/mL 瑞氏染液，配制 0.06 mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 值为 6.8）；将上述二液以 1：3 混合，染色 1.5 min～4 min 后水洗，空气干燥。

2. 骨髓细胞的短期培养法

①培养基的准备：同上。

②从髂骨抽取骨髓 0.2 mL～0.5 mL，无菌操作注入上述培养基瓶中，混匀后置 37 ℃下培养 23 h～25 h，在终止培养前 4 h～6 h 加秋水仙素 0.05 mL～0.1 mL，混匀，继续培养到收获。

③收获及制片步骤和外周血基本相同。

第二节　分子－细胞遗传学技术

一、荧光原位杂交

自 1969 年报道采用同位素标记的探针进行核酸序列原位杂交以来，该技术很快被广泛应用。而荧光原位杂交（Fluorescence in situ Hybridization，FISH）是原位杂交技术大家族中的一员，它通常是用生物素或地高辛标记探针，通过荧光染料结合的检测试剂如抗体进行检测；也可将荧光染料直接标记的核酸探针用于检测大的靶序列，这种操作所需时间少，背景染色低。该方法在 20 世纪 80 年代末被建立，现已从科研实验室逐步进入临床实验诊断领域。

（一）基本原理

荧光原位杂交的基本原理是荧光标记的核酸探针在变性后与已变性的靶核酸在退火温度下复性；通过荧光显微镜观察荧光信号，可在不改变被分析对象（即维持其原位）的前提下对靶核酸进行分析（如图 13－1 所示）。DNA 荧光标记探针是其中最常用的一类核酸探针，利用此探针可对组织、细胞或染色体中的 DNA 进行染色体及基因水平的分析。荧光标记探针不对环境构成污染，灵敏度能得到保障，可进行多色观察分析，因而可同时使用多个探针，避免出现因单个探针分开使用导致的周期过长和技术障碍等问题。

（二）基本仪器与试剂

1. 仪器

FISH 技术对仪器的要求不高，普通实验室的常规设备，如离心机、水浴缸（或锅）、恒温培养箱等都可使用，荧光显微镜也是许多实验室都有的。

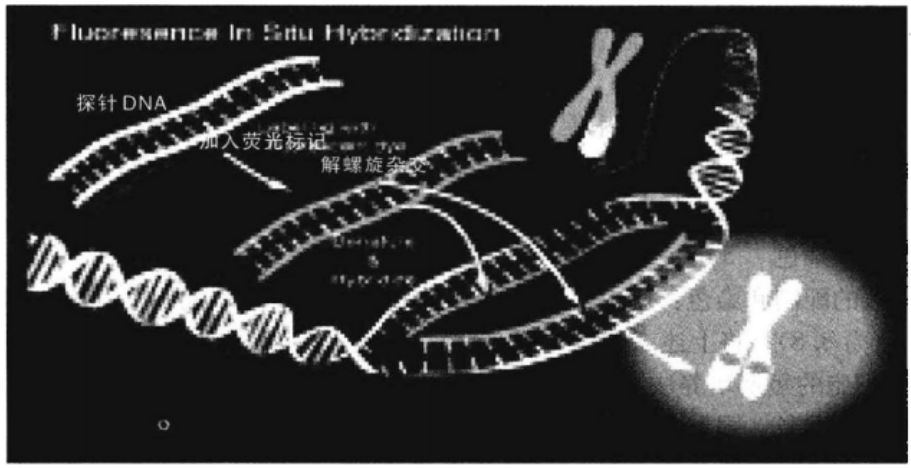


图 13-1 FISH 的原理示意图

2. 试剂

荧光探针的制备标记：①探针的来源：用做 FISH 探针的 DNA 可以来自质粒、噬菌体、粘粒、BAC 或 YAC 等多种载体。原则上大于 1 kb 即可，但最好大于 10 kb，以便于杂交和在荧光显微镜下辨认。DNA 的质量直接影响探针标记的效率，但按常规方法抽提的 DNA，其质量已足以用于探针标记，不需进行特殊处理。②探针标记方法：缺口翻译法（Nick Translation）和随机引物法（Random Primer）均可，而且可购买到商品化的试剂盒。按标记物不同，又可分为直接法和间接法。用生物素（biotin）或地高辛（digoxingenin）标记称为间接标记，杂交后需要通过免疫荧光抗体检测方能看到荧光信号，因而步骤较多、操作麻烦，其优点是在信号较弱或较小时可经抗原抗体反应扩大。直接用荧光素标记 DNA 的方法称为直接标记。由于直接标记的探针杂交后能马上观察到荧光信号，省去了繁琐的免疫荧光反应，不再需要购买荧光抗体，并且近年来荧光素的亮度和抗淬灭不断得到改进和提高，所以直接标记的荧光探针越来越成为首选。如 Vysis 公司的 FISH 探针均采用直接荧光标记，并采用多种不同颜色的荧光，方便了在同一标本上同时检测多种异常。其荧光强度和信号大小都易于在普通荧光显微镜下观察，操作过程中也不需要严格避光，使 FISH 过程变得简便而易于操作。由于现在已有较多的商品化 FISH 试剂盒上市，对其操作过程我们就不作过多的描述。

（三）FISH 在遗传病诊断中的应用

FISH 诊断技术是一种分子生物学技术与细胞遗传学技术相结合的实验诊断技术，它集分子生物学技术与细胞遗传学技术于一体，具有结果稳定、直观明确、重复性好、分析趋于自动化等优点，因而应用范围十分广泛。

1. 产前诊断

产前诊断是搞好优生、提高人口素质的重要措施，遗传性疾病及诊断越来越引起人们的普遍关注。就染色体病而言，其发病率高，但经典细胞遗传学方法不能满足快速诊断及病例大量增加而待诊的需要，而荧光原位杂交可弥补上述不足。主要原因是 FISH 可对间期细胞染色体作遗传分析，对于采获的胎儿细胞（如羊水、绒毛、脐带血、皮肤细胞等）可不经培养即可提供准确的染色体信息，缩短周期，减少因培养失败而带来的麻烦。就人群中染色体病而言，13，18，21，X，Y 染色体数目异常占 95%，因此如同时运用此五个探针，可检出

95%的染色体病例。这些探针较容易获得。当然对于开展了唐氏筛查的单位，也可单独运用21号染色体专一探针作出胎儿是否为21三体综合征的诊断。同样对于染色体水平的结构畸变，如缺失或重复，及基因水平的缺失或重复，利用FISH技术也可对间期细胞进行诊断。

有些染色体畸变，比如易位、缺失和重复等，往往在常规染色体分析中不能明确诊断，若运用FISH技术使用区域专一性探针或染色体涂染探针，可很快地作出明确诊断。

2. 产后诊断

对于大量产前遗漏的疑难染色体病或基因病，如染色体易位、重复和缺失等，可在产后通过FISH技术进行诊断，除了可明确诊断外，更重要的是为其后代产前诊断提供有力依据。

3. 植入前遗传学诊断

对于不孕症患者来说，昂贵的费用使得他们对来之不易的妊娠特别珍惜。因此，在胚胎植入母体子宫之前有针对性地进行遗传病的诊断，可杜绝不良胚胎的植入，减少畸形胎儿的发生率，为“试管婴儿”及其父母带来更大好处。但植入前胚胎能奉献出细胞用于遗传分析的数量有限（为1～2个细胞），且为间期细胞，因此唯有用FISH或PRINS技术方能从染色体水平对胚胎进行诊断，当然也可从基因水平对某些基因病进行诊断。

4. 肿瘤诊断

肿瘤现已成为危害人类健康的一大公害，几乎人的每一个器官都可能发生肿瘤。虽然肿瘤的种类繁多，涉及的器官也不大一致，但从发病机制角度看，不外乎基因水平和染色体水平。明确诊断是进行治疗、选择治疗方案及有效治疗的前提。许多公司都可提供一些肿瘤诊断的探针，包括基因水平的，也有染色体水平的，可使用的标本有新鲜的组织标本、石蜡包埋的组织标本、细胞涂片（如外周血细胞）、培养细胞（包括间期和中期细胞）等。目前，采用FISH技术对某些白血病进行诊断或早期诊断是白血病诊断的一个重要手段。总之，FISH技术在临床诊断中的应用范围十分广泛，在具体运用过程中应依不同病种选择相应探针，即可达到较好的效果。

二、比较基因组杂交

比较基因组杂交（Comparative Genomic Hybridization，CGH）技术是在荧光原位杂交（FISH）基础上结合消减杂交技术于20世纪90年代发展起来的一种新的分子细胞遗传学技术，它使间期基因组快捷可靠的检测成为可能。与传统细胞遗传学技术和FISH技术不同，该技术不需预先知道受影响的部位，一次实验就可检出待测标本整个基因组拷贝数的增减。也可在物种间进行染色体同源性比较。

（一）原理

以不同荧光标记待测和参照细胞群的等量基因组DNA，并用大大过量的未标记Cot－1 DNA抑制散在重复序列（Interspersed Repetitive Sequence，IRS）。不同标记的DNA同时与正常中期染色体杂交，结果正常染色体每个位点上的两种荧光强度之比反映待测与参照基因组DNA序列的拷贝数之比。

（二）方法

CGH操作过程与FISH的操作过程十分相似，但有几点需要特别注意。

1. 染色体涂片的制备

CGH实验对中期细胞的染色体涂片质量要求很高，最好是涂片上无残余的细胞浆，染

色体几乎无重叠，中期细胞和间期核间要充分分开。因此，按照标准的细胞遗传学方法采用外周血培养制备染色体标本时，可适当增加固定次数，延长固定时间，在滴片时先将载玻片在乙醇中洗涤，然后用水冲洗。

2. DNA 的制备

从待测细胞中提取高质量的 DNA 至关重要。如检测肿瘤，所取标本需具代表性，所含肿瘤细胞比例要高，且尽量不含污染的坏死物质。从血液或实体组织提取基因组 DNA，可参阅本书有关章节。下面介绍从石蜡包埋组织中提取 DNA 的过程：

（1）从石蜡块中切取厚度约 5 mm 的切片 50 片左右，分别用 1 mL 二甲苯和 1 mL 甲醇各洗涤切片两次，以去除石蜡。

（2）在 1 mL 1 mmol/L 的硫氰酸钠溶液中 55 ℃过夜。

（3）在 1 mL 抽提缓冲液中 55 ℃消化 72 h，每 24 h 加 0.2 mg 蛋白酶 K。

（4）采用酚/氯仿提取 DNA（参阅本书有关章节）。

（5）加 1/20 倍体积的 3 mol/L 醋酸钠（pH 值为 5）和 2 倍体积乙醇，置－80 ℃孵育 30 min，然后离心、洗涤、干燥，DNA 悬浮在 TE 缓冲液中。

3. DNA 探针标记

目前最常用的方法是酶介导的缺刻平移法。这种方法可间接标记，即待测 DNA 可用生物素－14－dUTP 标记，对照 DNA 用地高辛－11－dUTP 标记；也可直接标记，即用连接有荧光素的分子如罗丹明－dUTP 和异硫氰酸酯（FITC）－dUTP 分别标记待测和参照 DNA，直接检测杂交。

4. 原位杂交

将已标记好的待测 DNA 1 μg、参照 DNA 1 μg 和竞争 DNA（人类 Cot－1 DNA）100 μg 混合，在－80 ℃放置 30 min，使 DNA 沉淀，然后离心、洗涤、干燥，置入杂交缓冲液，变性（同时对玻片上的染色体 DNA 进行变性），然后在 37 ℃孵育 30 min，以抑制 IRS，然后将变性探针混合物与玻片上变性的中期染色体杂交，严格冲洗，再以 4，6－二氨基－2－苯吲哚（DAPI）复染。如果是间接标记探针，则用连有不同荧光的抗体与不同标记的半抗原通过免疫组化染色，再复染。

5. 检测

选择至少 5 个杂交信号光滑、背景较低、着丝粒和异染色质区域标记探针结合较少以及 DAPI 带型较好的中期染色体进行计算机软件处理，分析每一染色体上的平均荧光比，即可制作 CGH 拷贝数核型模式图（如图 13－2 所示）。

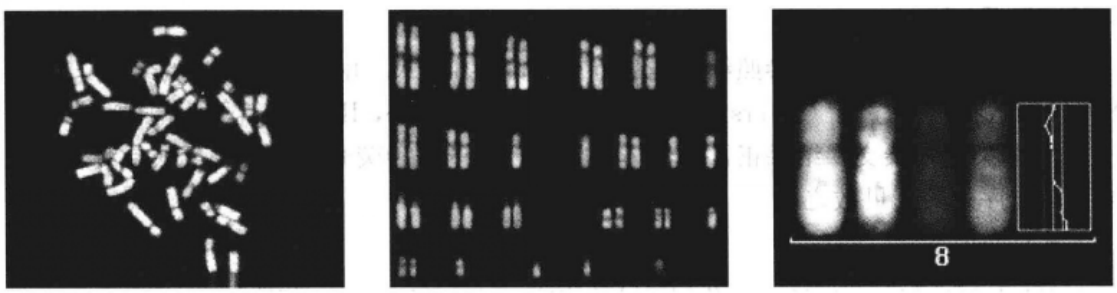


图 13－2 CGH 拷贝数核型模式

（三）CGH 的应用

CGH 已被广泛应用于辅助核型分析、血液系统疾病以及实体瘤等标本的研究。

1. 辅助核型分析

CGH 主要用于检测肿瘤细胞的染色体不平衡，但 CGH 也可作为临床细胞遗传学核型分析的辅助手段。CGH 可代替需特殊探针的经典 FISH 技术，用于检测染色体异常的快速产前诊断。

2. 在血液系统疾病研究中的应用

近年来，CGH 结合传统核型分析、FISH 等分子细胞遗传学技术广泛应用于研究血液系统疾病有核血细胞的 DNA 拷贝数变化与血液病的相关性。如对儿童急性原始淋巴细胞白血病的分析结果显示 CGH 的成功率接近 100%，而细胞遗传学方法远远达不到这种程度。

3. 在实体瘤研究中的应用

CGH 技术的一个重要用途是实体瘤的研究，这也是该技术应用最早的领域。它可以显示实体瘤中染色体 DNA 拷贝数的增加或减少，一些拷贝数的变化与肿瘤的分化程度相关，并能通过 CGH 结果提示一些疾病的发病机制。CGH 技术也被用于研究肿瘤耐药的分子机制，并能判断预后。

CGH 技术还被广泛用于揭示肿瘤恶性转变的进展途径，分析原发癌和转移癌之间以及不同部位转移癌之间的遗传物质差异。

三、光谱核型分析

荧光原位杂交（FISH）较染色体核型分析而言具有更高的灵敏性、特异性和分辨率。但因光谱上不重叠性的荧光染料数目有限，FISH 技术不能同时用不同颜色分辨所有的人类染色体，并且该技术只能对实际上已经定位的染色体进行分析。Schrock 等在 1996 年介绍了光谱染色体核型（Spectral Karyotyping，SKY）分析方法，一次杂交即可分辨 24 条人类染色体。该方法是通过傅立叶光学显微镜，将光学显微镜、高分辨率成像和荧光染料发射光谱的测定结合起来，同时计量样本在可见光和近红外范围内所有点的发射频谱，因而可以使用多个荧光染料的频谱重叠的探针。

Speicher 等在 1996 年提出的多色荧光原位杂交（Mulitiplex-FISH）也可以提供全部 24 条染色体的多色核型分析图谱。与之相比，SKY 在滤镜的设置和软件中涉及的具体算法上都有不同。

（一）SKY 的基本原理

标记了不同荧光染料的染色体涂染探针的发射光谱通过特定的三重带滤镜测量，在经过一个干涉仪后使染色体涂染探针上荧光基团发射出的光产生光程差。这些荧光基团的发射光谱在通过干涉仪后产生了细微的区别，这足以使电荷偶合设备相机捕获其特异光谱而成像。从发射光谱变成可视的图像这一步是通过给特别的光谱范围分配蓝、绿、红三种颜色完成的，这时显示出的颜色称为显示色。获得的显示色上的色差类似于传统单色荧光显微方法获得的色差，所以频谱重叠的荧光染料其各自的显示色也会看起来较相近。这时不同的染色体在颜色上还不能区分。染色体要获得区分，还需要分配一种与显示色一一对应的区分色。区分色通过计量每一个像素上的频谱并通过傅立叶变换得来，因此染色体的区分是通过分配依据光谱的区分色，通过计算转换得来的。具有相同的频谱的像素具有相同的区分色。由于各

个染色体带有的单个荧光染料不同或荧光染料的组合不同，也就不会有频谱完全一样的染色体。只要每种荧光染料的发射光谱的差别不小于 15 nm，就可利用上述方法获得满意的区分色结果使染色体得到区分。

（二）SKY 的流程及操作

SKY 的基本技术流程源于荧光原位杂交，制备带有荧光染料标记的 DNA 探针，与中期染色体杂交，再通过荧光显微成像观察结果。与一般荧光原位杂交不同的是，其同时使用 24 种染色体的涂染探针，而杂交的靶 DNA 可以是疾病标本或细胞系的中期染色体，这一点与比较基因组杂交（CGH）使用正常外周血淋巴细胞中期染色体不同。通过硬件与软件的改进，SKY 同时用不同颜色分辨所有的人类染色体，这是荧光原位杂交所不能做到的。同样，目前已有商品化的试剂及操作流程，只需按照试剂盒使用说明书操作即可，我们也就不再赘述其操作过程。

（三）光谱染色体核型（SKY）分析的应用

凡是 FISH 技术应用的范围，SKY 技术均可适用。但 SKY 技术在以下两方面更为有效。

1. 在淋巴造血系统恶性疾病中的应用

由于 SKY 需要在肿瘤的中期染色体片进行分析，所以许多研究围绕淋巴造血系统肿瘤展开（得益于其相对容易获得的中期染色体片），这方面既有利用细胞系也有利用临床活检标本的报道。例如，对患有 ALL（急性淋巴细胞白血病）的儿童进行 SKY 分析，检测到 12 号和 21 号染色体间的易位。该易位表明预后良好，而用 G-banding 方法检测不到。

2. 在实体瘤中的应用

Padilla 等建立了膀胱移行细胞癌细胞系 BK－10，这是一个近 4 倍体的具有 2 个亚克隆的细胞系。SKY 肯定了 12 个过去 G 显带描述过的标记染色体，重新定义了 11 种染色体异常，并发现了 4 种隐藏的染色体重排，21 种易位中有 20 种是不平衡易位。结合了传统 G 显带、FISH 和 SKY 技术，一个全新的所谓“SKY 图谱”充分展示了膀胱移行细胞癌细胞系 BK－10 既结构复杂又数目众多的全部染色体异常。Macvillc 等在应用 SKY、CGH、FISH 全面复习宫颈癌细胞系 HeLa 中的细胞遗传学改变。经过比较，过去 G 显带发现的 18 个标记染色体经 SKY 重新鉴定后，有 12 个不仅校正了畸变染色体的来源，而且确定了 CGH 所提示的具有拷贝数改变的染色体的断裂位置。除此以外，经 SKY 方法分析，又检出了 2 个新的染色体异常。例如，一名儿童被诊断为患有内皮性骨髓瘤，但经 SKY 分析之后，发现了 X 染色体和 18 号染色体之间有易位，而这种易位只发生于滑野性肉瘤，于是医生根据 SKY 的分析结果相应地改变了治疗方案。

总之，光谱核型分析技术只需一次杂交即可展示所有染色体的核型图谱，其与传统显带技术和荧光原位杂交比较，可以较方便、较全面地分析鉴定染色体的异常；光谱核型分析技术作为传统细胞遗传学方法的补充，为肿瘤细胞遗传学资料的积累、发病机制探讨提供了新手段。由于越来越多的证据表明，肿瘤的细胞遗传学资料对于疾病的分类及预后的判断可以提供帮助，我们相信，SKY 结合染色体显带技术及其他分子细胞遗传学技术，将会在肿瘤的研究和临床工作中发挥更大的作用。

四、寡核苷酸启动原位 DNA 合成技术

寡核苷酸启动原位 DNA 合成（PRINS）技术，是由 Koch 等于 1989 年建立的 DNA 分

析新技术。此后该技术已在可靠性、敏感性和分辨率方面得到迅速的改进，现可望成为一个替代荧光原位杂交（FISH）的快速的常规方法，它是转移组织和产前诊断中鉴定非整倍染色体及人体杂交细胞系染色体分析的一个强有力的手段。

基本原理：在复性温度下，将未标记的寡核苷酸 DNA 引物与事先制备在载玻上的已变性的染色体特异结合，用掺入的标记核苷酸在原位进行酶促延长并进行检测的染色体标记技术。据此可检测出引物结合在染色体上的具体位置。

作者通过多年的研究，已建立了 PRINS 技术进行外周血、羊水、精子等标本中的染色体原位标记。现介绍我们应用非 ddNTP 阻断的多色引物原位标记方法对人类外周血淋巴细胞中期染色体的数目异常检测所进行的可行性研究。

1. 样本与试剂准备

外周血样本搜集于常规核型分析正常（G 显带）的健康男子，采用标准的细胞遗传学方法获得中期细胞培养，同时也搜集了一个克氏综合征（Klinerfelter Syndrome，47，XXY）患者的外周血样本，来对此方法进行有效性的验证。中期细胞经 0.075M KCl 溶液低渗后，用固定液（甲醇：冰乙酸=3：1）固定，之后滴加于洁净玻片上获得中期分裂相展布。玻片依次经过 70%、85%、100%的梯度乙醇溶液，每个浓度停留 2 min，随后风干（玻片可以于室温下保存）。再浸入 72 ℃的 70%去离子甲酰胺/2×SSC 溶液中 5 min 来进行变性，后快速转入冰的乙醇梯度溶液 70%、85%、100%中，再脱水并风干。

18 号、X、Y 染色体的 PRINS 引物序列参考 Pellestor F 等和 Speel E J 等的文献（主要来源于人类染色体 α 卫星序列），通过与着丝粒序列进行比对，评估其有效性和特异性。PRINS 引物由 Invitrogen 公司（Invitrogen Corporation，China）合成，并通过双色 PRINS 预实验摸索和优化其使用条件（包括温控和浓度）。引物序列及优化后的使用条件见表 13−1。靶标序列的标记体系为 25 μL，内含单一染色体特异引物：0.1%BSA，0.2 mM dNTP（N = A/C/G，Promega Corporation，USA），0.02 mM dTTP（Promega Corporation，USA），0.02 mM dUTP（Roche Applied Science，USA），2.5 u Taq DNA 聚合酶（Takara Bio Inc.，Japan）及 Taq Buffer。间接标记采用的 dUTP 为 biotin-16-dUTP 和 digoxigenin-11-dUTP，而每步 PRINS 反应的退火选择引物特异温度，延伸则在 Taq 酶的最优催化温度下进行，以获得更为均一的标记效果。

2. 双色及三色 PRINS 程序

引物的有效性和特异性首先通过双色 PRINS 预实验进行评估。由于在非 ddNTP 阻断的 PRINS 方案中首先标记的靶点显示红色信号，反应采用两种标记顺序标记 X 和 Y 染色体，即先 X 后 Y 和先 Y 后 X。同时相应 dUTP 的加入顺序为一致的 biotin-digoxigenin，以先后获得红色和绿色荧光信号。变性后的样本玻片置于 PCR 仪原位反应模块（Peltier Thermal Cycler MG48 g，LongGene Scientific Instruments，China）上于退火温度预热 5 min 以上。玻片达退火温度后滴加第一反应混合物（74 ℃预热），立即覆盖 22 mm×22 mm 的盖玻片并封片，反应在退火温度下持续 9 min，然后在 72 ℃延伸 10 min 以上。第二次反应与第一次步骤相同。两次反应之间，玻片在 1×PBS 溶液中略洗 2 min。

通过评估双色 PRINS 预实验的结果，三色 PRINS 程序采用 digoxigenin-biotin-digoxigenin 的反应标记物加入顺序以依次标记 18 号、X 和 Y 染色体上的着丝粒靶标为黄色、红色和绿色。每条引物退火 7 min，延伸 10 min；每两次 PRINS 反应之间用 1×PBS 漂洗去除前次的反应体系。最后一次反应结束后，玻片依次放入 72 ℃的 NE 溶液（500 mmol/L

NaCl，50 mmol/L EDTA，pH8.0）和 50 ℃的 4×SSC，0.5% Tween 20 中各洗 5 min 以终止延伸反应。

3. 信号检测与图像分析

靶标所结合的 dUTP－半抗原由荧光抗体进行间接标记，这里采用混合荧光抗体共孵育同时标记多个靶标。避光滴加荧光抗体溶液 50 μL（20 μg/mL anti-digoxigenin-FITC，10 μg/mL avidin-Rhodamine，Roche Applied Science，USA）于玻片后，覆盖封口膜并保湿于 37.5 ℃孵育 30 min，然后用 1×PBS，0.2% Tween 20 漂洗 3 次，每次 4 min～5 min。最后以 DAPI（Sigma Corporation，USA）/Anitfade 溶液（Applygen Technologies Inc.，China）复染液进行复染并封片。在带有 Zeiss Plan-NEOFLUAR 100/1.30 oil 物镜及 DAPI/FITC/Rhodamine 三通频带滤色镜的 Axioplan 2 imaging 显微系统（Carl Zeiss Inc.，Germany）下观察荧光信号，AxioCam Camera 模块采图，ISIS 5（MetaSystems Company，Germany）软件进行图像处理。细胞记数由两名实验人员独立进行，每张玻片记录至少 50 个中期核。一个中期相内包含清晰的不同颜色的信号，并对应正确的标记染色体个数和靶点位置，被视为成功标记。两个进行统计的信号之间至少相隔一个相对小信号直径进行区别。对于重叠的或缺乏明确界线的淋巴细胞中期相不予计数。

4. 结果

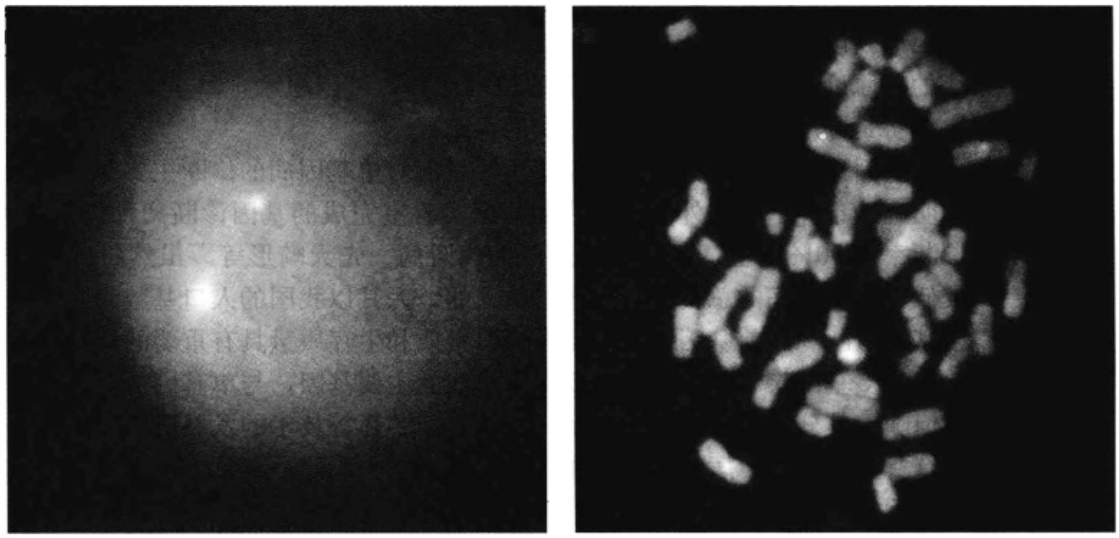
通过外周血中期淋巴细胞的双色 PRINS 预实验（如图 13－3 所示）获得了染色体的靶标序列及荧光色素标记能力的评估信息，并对引物的使用条件进行了优化。尤其对于 Xc 这样易于产生非特异标记的引物，严格控制其反应条件。引物序列及优化反应条件见表13－1。表 13－1 的下面两行（X、Y 引物）即为双色预实验的一种顺序，使 X 染色体首先标记为红色荧光，Y 染色体标记为绿色（如图 13－3（a）所示）。另一种顺序的标记结果如图13－3（b）所示，可以看到，Rhodamine 的强荧光配合 Y 靶标的高效使 Y 染色体十分明亮，而 FITC 配合 X 着丝粒则要暗淡得多。所以在最终的三色 PRINS 方案中交换了这个搭配（见表 13－1），以获得更均一的标记效果。

表 13－1 三色 PRINS 反应方案

反应步骤	染色体数	引物	染色体基因位置	引物序列（5′→3′）	退火温度（℃）	最优浓度（μM）	荧光染料	颜色
1	18	18c	18 α－sat	ATGTGTGTCCTCAACTAAAG	66	20	Rhodamine/2×FITC	Yellow
2	X	Xc	X α－sat	GTTCAGCTCTGTGAGTGAAA	72	16	Rhodamine/FITC	Red
3	Y	D600	Y sat III	TCCATTCGATTCCATTTTTTTCGAGAA	58	18	FITC	Green

整个三色 PRINS 标记实验时间控制在 3 个小时以内，通过采用 dig－bio－dig 的标记顺序，在淋巴细胞中期相目的染色体的靶位准确获得了清晰明亮的黄色、绿色和红色信号，全色（具有三色信号）标记率达 90.2%，双色标记率为 91.1%，单色标记率（至少标记上一色荧光的中期核）为 93.6%。间期核的标记也获得了完全一致的效果（如图 13－3 所示）。对于克氏综合征患者外周血样本中期相，也准确地获得了 2 个 18 染色体信号（黄色）、2 个 X 染色体信号（红色）和 1 个 Y 染色体信号（绿色），与 G 显带核型分析的结果一致（如图

13－4 所示），从而验证了快速三色 PRINS 方法检测染色体非整倍性的准确性。



(a)　(b)

图 13－3　双色 PRINS 标记的中期淋巴细胞

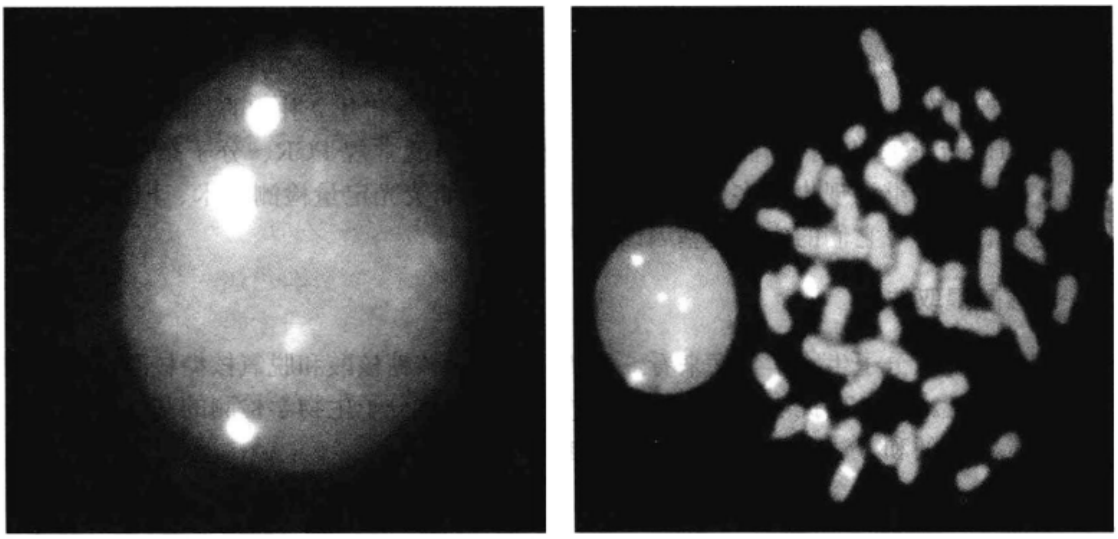


图 13－4　三色 PRINS 标记的中期淋巴细胞

第三节　分子遗传学技术

医学分子遗传学是现代医学遗传学的一个重要组成部分，是分子遗传学知识的临床应用。随着 20 世纪 80 年代以聚合酶链反应为代表的基因体外扩增技术的出现和 90 年代人类基因组计划的启动与完成，为分子遗传学技术的发展提供了充分有利的条件。

分子遗传学技术是以基因诊断为主要内容的一类崭新的诊断方法，能够直接从 DNA/

RNA 水平检测人类疾病的突变基因和病原体基因。与传统的表型诊断相比，基因诊断更准确、快速、便捷。自 1978 年 Kan 首次成功进行镰状细胞贫血的产前基因诊断至今，短短二十余年时间，基因诊断以基础研究成果为依托，已能完成近百种遗传病的完全或部分基因诊断，在对传染病的病原诊断中也正显示出强大的技术优势。可以想象，21 世纪作为分子生物学的世纪，也必将是分子遗传学技术发展最快的世纪。

遗传性疾病的基因诊断是核酸诊断的直接应用。目前对单基因病的诊断主要基于其分子致病机制已基本明确的条件上，国外能在专业和临床实验室完成的基因诊断病种已近百种，其中部分疾病诊断率在 90%以上，包括多种遗传性代谢病、先天畸形等。虽然每一种遗传病的发病率均较低，但遗传病的总发患者数却是惊人的，尤其以我国的人口基数而言，积极开展疾病的直接基因诊断和产前基因诊断对提高人口素质和生存质量具有重要的意义。就病因复杂、发病率高的多基因疾病而言，已发现部分致病的主要基因，与单基因疾病比较，其诊断困难较大。但随着其分子病因逐步被揭示，随着基因芯片等技术的发展成熟，对这类疾病的基因诊断将有所突破。遗传病中的染色体疾病一直以来采用的是染色体检查，即在细胞水平上进行诊断，近年来随着染色体微缺失的发现和荧光原位杂交等技术的应用，细胞遗传学诊断与分子遗传学诊断出现融合，已能检测部分染色体微小异常。另外，线粒体疾病的基因诊断也正在相继开展。

肿瘤是目前威胁人类生存的主要疾病之一，由于其发病率高、病因复杂、预后差而受到广泛重视。对肿瘤相关基因的研究表明，肿瘤的发生是多基因共同作用的结果，包括肿瘤特异性融合基因、癌基因、抑癌基因和肿瘤转移抑制基因等。对这些基因及其异常的检测对肿瘤的发展和预后估计具有重要的指导意义，可以预计在今后 10 年里将建立肿瘤的基因检测体系。

就基因诊断所采用的技术而言，除发展已相当成熟的常规 PCR、分子杂交及突变检测技术外，目前还相继涌现出许多新的核酸诊断技术，如荧光定量检测技术、FISH、PRINS 及基因芯片技术等，它们的应用使基因诊断更加有效。

一、核酸提取技术

我们知道，从分子生物学角度来看，遗传物质是指核糖核酸和脱氧核糖核酸，一般统称核酸。从各种标本中分离提取可供有效检测的核酸是进行分子生物学检测的基础。目前，针对不同的检测目的和方法，有许多相应的核酸提取技术。

（一）DNA 提取方法

1. 酚－氯仿提取法

在分子生物学研究中，最经典和最常用的基因组 DNA 提取方法是酚－氯仿提取法，该方法提取 DNA 的优点是纯度高、完整性好，适合于基因组 DNA 的直接分析（如 Southern 杂交）及多重 PCR 等对 DNA 质量要求较高的检测。但该方法亦有程序复杂、操作时间较长、DNA 丢失较大和酚污染重等问题，临床适应性欠佳。下面介绍其操作步骤。

（1）材料与试剂准备。

试剂：

饱和酚：DNA 在酸性 pH 条件下存在于有机相中，因此，在酚使用前必须进行平衡，使其 pH 值在 7.8 以上。其基本步骤是：①将－20 ℃保存的酚取出，在 68 ℃使酚溶解，加入羟基喹啉至终浓度为 0.1%，其黄颜色有助于方便地识别出有机相；②加入等体积的缓冲液 0.5 mol/L Tris-Cl（pH8.0），用磁力搅拌器混合 15 min 熔化酚，关上搅拌器待两相分开

后尽可能彻底地移出水相；③加入等体积 0.1 mol/L Tris-Cl（pH8.0）到酚中，搅拌 15 min，两相分开后移出上层水相；④重复抽提过程，直到酚相的 pH 值大于 7.8；⑤移出液相后，加入 0.1 体积含有 0.2% β－巯基乙醇的 0.1 mol/L Tris-Cl（pH8.0）。酚溶液可装在不透光的瓶中并处于 10 mol/L Tris-Cl（pH8.0）缓冲液层之下，于 4 ℃保存一个月。目前已有市售饱和酚可直接用于 DNA 提取。

酚：氯仿：异戊醇（25：24：1）混合液：从核酸样品中去除蛋白质时常常使用等体积混合的饱和酚：氯仿：异戊醇（25：24：1）溶液。其中，氯仿可使蛋白质变性并有助于液相与有机相的分离，异戊醇则有助于消除抽提过程中出现的泡沫。氯仿和异戊醇在使用前均无需处理，放在不透光的瓶中并处于 100 mol/L Tris-Cl（pH8.0）缓冲液之下的酚：氯仿：异戊醇混合液可在 4 ℃保存一个月。

蛋白酶 K：主要作用是降解核酸标本中的蛋白质。以去离子水溶解粉末状蛋白酶 K，储存浓度 20 mg/mL，－20 ℃保存。可直接加入 DNA 抽提缓冲液，其反应浓度为 50 μg/mL～100 μg/mL。

TE 缓冲液（pH8.0）：10 mM Tris-Cl（pH8.0），1 mM EDTA（pH8.0）。

磷酸缓冲盐溶液（PBS）：8 g NaCl、0.2 g KCl、1.44 g Na_2HPO_4、0.24 g KH_2PO_4 溶解于 800 mL 蒸馏水中，用 HCl 调节 pH7.4，加水定容至 1 L，高压灭菌，室温保存。

抽提缓冲液：10 mM Tris-Cl（pH8.0）、0.1 M EDTA（pH8.0）、20 μg/mL 胰 RNA 酶、0.5% SDS。

材料：

15 mL、1.5 mL 离心管，刻度吸管等，高压蒸汽灭菌。

（2）操作步骤（以外周血标本 DNA 提取为例）。

①临床上为避免新鲜血液分离白细胞的复杂操作，一般采用冻藏血液 5 mL，室温解冻，加入等体积 PBS，混匀稀释。

②室温、3 500 rpm 离心 15 min，弃上清液。重复 PBS 洗涤，直至标本中未见明显的红细胞碎片为止。

③加入 10 mL 抽提缓冲液，37 ℃温育 1 h。

④加入蛋白酶 K 至终浓度 100 μg/mL，充分混匀。37 ℃消化过夜或 56 ℃消化 3 h。注意保持蛋白酶 K 的均匀状态。

⑤将溶液冷却至室温，加入等体积饱和酚，缓慢颠倒离心管混匀 10 min。

⑥室温、5 000 rpm 离心 15 min，小心转移上清液到另一离心管。重复饱和酚提取一次。

⑦加入等体积的饱和酚：氯仿：异戊醇（25：24：1）溶液，抽提一次。

⑧加入等体积氯仿抽提一次。

⑨加入 0.2 体积的 10 M 乙酸铵和 2 倍体积－20 ℃的无水乙醇沉淀 DNA，挑出絮状 DNA。

⑩加入 70%乙醇洗涤一次，真空干燥或置于空气中干燥，加入 200 μL TE 溶解 DNA，4 ℃保存。

2. 盐析法

盐析法提取标本中的 DNA 也是目前实验室广泛采用的方法，其优点是快速、方便和无污染，在临床外周血 DNA 提取中使用较多，完全能满足常规 PCR 扩增对 DNA 质量的要求。但该方法提取的 DNA 纯度比酚－氯仿提取法低，且有时会因蛋白质污染而影响扩增，

尤其不适合于对 DNA 模板完整性和纯度要求较高的实验。在临床标本量较少时一般建议不采用盐析法，以免 DNA 丢失过多。

（1）材料与试剂准备。

试剂：

0.1%NP－40：1 mL NP－40 加入去离子水至1 000 mL。

饱和 NaCl：200 g NaCl 加入去离子水至 600 mL。

蛋白酶 K：储存浓度 20 mg/mL，－20 ℃保存。可直接加入 DNA 抽提缓冲液，其反应浓度为 50 μg/mL～100 μg/mL。

抽提缓冲液：10 mM Tris-Cl（pH8.0）、0.1 M EDTA（pH8.0）、20 μg/mL 胰 RNA 酶、0.5% SDS。

TE 缓冲液（pH8.0）：10 mM Tris-Cl（pH8.0），1 mM EDTA（pH8.0）。

材料：

15 mL、1.5 mL 离心管，刻度吸管等，高压蒸汽灭菌。

（2）外周血 DNA 提取操作步骤。

①冻藏血液 5 mL，室温解冻。

②在解冻标本中加入蒸馏水至 12 mL，颠倒混匀，室温、9 000 rpm 离心 10 min。

③弃上清液，加蒸馏水至 12 mL 颠倒混匀至无明显沉淀，室温、9 000 rpm 离心 10 min。

④弃上清液，加入 0.1%NP－40 至 5 mL，混匀至无明显沉淀，室温、9 000 rpm 离心 10 min。

⑤弃上清液，加入 3 mL 裂解液、15 μL 20 mg/mL 的蛋白酶 K，震荡混匀，42 ℃过夜。

⑥加入 1 mL～2 mL 饱和 NaCl 溶液，室温、9 000 rpm 离心 15 min。

⑦转移上清液至 15 mL 刻度离心管中，加入 2 倍体积无水乙醇，静置至絮状沉淀出现。

⑧挑出絮状沉淀至 1.5 mL 离心管中，加入 500 μL 70%乙醇清洗，离心弃上清液。

⑨置室温 10 min，加入 200 μL TE 溶解 DNA 作为扩增模板。

3. 高温裂解法

高温裂解法是快速获得粗制 DNA 的一种方法，由于其具有操作容易、步骤少、DNA 丢失少等显著优点，在临床病原体检测中被广泛使用。但该方法获得的 DNA 纯度较低，加之模板溶液中可能存在较多的 PCR 反应抑制物，因此造成检测假阴性的可能性比其他方法大。

（1）材料与试剂准备。

试剂：

蛋白酶 K：储存浓度 20 mg/mL，－20 ℃保存。可直接加入 DNA 抽提缓冲液，其反应浓度 50 μg/mL～100 μg/mL。

抽提缓冲液：1X PCR 反应缓冲液、0.05% NP－40、0.05% Tween－20。

材料：

0.5 mL、1.5 mL 离心管，20 μL、200 μL 微量移液器吸头等，高压蒸汽灭菌。

（2）操作步骤。

①转移 500 μL 待检标本于 0.5 mL 离心管中。

②室温、12 000 rpm 离心 5 min，弃上清液。

③沉淀中加入 50 μL 抽提缓冲液，振荡打散沉淀。

④在热循环仪上 100 ℃高温裂解 10 min，冷却至室温。

⑤室温、12 000 rpm 离心 2 min，取上清液 3 μL～5 μL 作为扩增模板。

⑥如果扩增效果差或电泳显示背景高，可再用蛋白酶 K 重新消化上清液模板，高温变性后重新扩增。

4. 固相吸附洗脱法

固相吸附洗脱法是一类以固相硅质载体特异性吸附 DNA 和洗脱获得高纯度 DNA 的方法，其获得的 DNA 纯度高、丢失少，操作也比较简便，适合临床检测的要求，但其 DNA 提取的成本偏高。目前该类技术主要有两种方法：一是将含有 DNA 的溶液过柱，利用离心柱上的硅质特异性吸附 DNA，然后将洗脱液过柱，洗脱和溶解被滞留的 DNA，这种方法能从标本中快速获得尽可能多的 DNA 模板；二是将硅质直接加入 DNA 溶液中，在液相特异性吸附 DNA，通过离心分离硅质后，用洗脱液洗脱 DNA。这种方法也能很好地获得纯度较高的模板 DNA。

该类方法一般分为四步，即标本中细胞裂解、硅质吸附溶液中的 DNA、洗涤硅质－DNA 结合体和洗脱溶解 DNA。下面以玻璃粉吸附提取 DNA 为例进行说明。

（1）材料与试剂准备。

试剂：

细胞裂解液：1%SDS、10 mM EDTA。

4M 饱和 NaCl。

玻璃粉溶液。

洗涤液：50%乙醇、10M Tris-Cl（pH7.4）、1M EDTA、50 mM NaCl。

TE 缓冲液（pH8.0）：10 mM Tris-Cl（pH8.0），1 mM EDTA（pH8.0）。

材料：

15 mL、1.5 mL 离心管，刻度吸管等，高压蒸汽灭菌。

（2）操作步骤。

①在外周血单核细胞的标本中加入 1%SDS 破裂细胞，混匀。

②加入 4M 饱和 NaCl 和玻璃粉溶液，混匀。

③冰浴 5 min，每 1 min～2 min 混匀一次。

④1 000 rpm 离心 1 min，弃上清液。

⑤加入洗涤液洗涤沉淀 3 次，弃上清液。

⑥加入 TE 或去离子水，混匀，室温放置 3 min。

⑦5 000 rpm 离心 1 min，上清液为 DNA 模板。

5. 微量全血提取法

该方法又称为碘化钠提取法，特别适合于从微量全血中快速提取 DNA。

（1）材料与试剂准备。

试剂：

6M NaI。

氯仿：异戊醇（24∶1）混合液。

异丙醇，37%异丙醇。

TE 缓冲液（pH8.0）：10 mM Tris-Cl（pH8.0），1 mM EDTA（pH8.0）。

材料：

15 mL、1.5 mL 离心管，刻度吸管等，高压蒸汽灭菌。

（2）操作步骤。

①微量抗凝外周血中加入等体积 NaI，来回颠倒 20 s 混匀。

②加入等体积氯仿：异戊醇混合液，来回颠倒 20 s 混匀。

③室温、12 000 rpm 离心 5 min，转移水相。

④加入 1/2 体积的异丙醇，混匀，静置 3 min。

⑤室温、12 000 rpm 离心 5 min，去上清液。

⑥加入 37%异丙醇洗涤 DNA 沉淀。

⑦室温、12 000 rpm 离心 5 min，去上清液。

⑧空气自然干燥 DNA，加入等体积 TE 溶解 DNA。

（二）RNA 提取方法

随着分子生物学技术的发展和功能基因组学的研究，越来越多的基因功能被确定，其表达产物 mRNA 的检测正逐步被广泛采用，对 RNA 的检测成为继 DNA 检测后又一个新的发展方向。鉴于标本中 RNA 提取与 DNA 提取有较大的差异，现介绍如下。

不管采用何种方法进行 RNA 提取，都必须避免操作过程中 RNAase 污染而致的 RNA 降解。而 RNAase 广泛存在于实验室中，因此，RNA 提取需要进行严格的用品和试剂的准备，清除或抑制 RNAase。

通常实验室有两种主要的方法防止提取过程中 RNA 的降解：一是采用焦磷酸二乙酯（DEPC），它是 RNAase 的强抑制剂，利用 0.1%DEPC 浸泡实验用器具，可有效降低 RNAase 对实验的影响。另外，0.1%DEPC 可用于 RNA 提取试剂溶液的配制中，防止水和化学试剂中的 RNAase 污染。二是同时采用其他 RNAase 抑制剂，如 RNAase 的蛋白抑制剂、氧钒核糖核苷复合物及硅藻土等，通过与 RNAase 的结合与吸附最大限度抑制 RNAase 的活性。

目前许多试剂公司有使用方便的 RNA 提取试剂盒，包括酚－氯仿和柱提取两种方法，其中后者因其快速便捷的操作和稳定高效的 RNA 质量而得到越来越多的使用。尽管如此，酚－氯仿结合异硫氰酸胍的使用仍然是最常用的 RNA 提取方法，其中异硫氰酸胍的使用使 RNAase 被灭活。

1. 材料与试剂准备

试剂：

提取缓冲液：4M 异硫氰酸胍、25 mM 柠檬酸钠、100 mM β－巯基乙醇。

饱和酚：氯仿：异戊醇（50：49：1）混合液。

3M 醋酸钠（pH5.2）。

DEPC 处理的去离子水。

RNA 酶抑制剂。

20%PEG6000。

材料：

15 mL、1.5 mL 离心管，刻度吸管等，高压蒸汽灭菌。

2. 操作步骤

①将 20% PEG6000 与血清等标本等体积混匀。

②4 ℃放置 3 h，4 ℃、12 000 rpm 离心 15 min，弃上清液。

③加入一定量的提取缓冲液，混匀。

④加入等体积饱和酚：氯仿：异戊醇混合液，混匀，冰浴 10 min。

⑤4 ℃、12 000 rpm 离心 5 min，小心转移水相。

⑥用氯仿：异戊醇混合液抽提一次，转移水相。

⑦加入 1/10 体积的 3M 醋酸钠和 2.5 倍无水乙醇，混匀，冰浴 1 h。

⑧4 ℃、14 000 rpm 离心 10 min，弃上清液。

⑨用 75%乙醇清洗一次，空气自然干燥或真空干燥。

⑩小体积 DEPC 处理水溶解 RNA，可加入少量 RNA 抑制剂，在－20 ℃～70 ℃下保存。

上面介绍的是最经典的 RNA 提取方法，与 DNA 提取一样，RNA 提取技术也是多种多样的，过滤柱提取与固体颗粒吸附释放提取都可以获得丰度和纯度较高的 RNA 模板用于临床检测，尤其是近年来自动化核酸提取仪的出现在很大程度上是为操作相对复杂的 RNA 提取设计的。

二、基因体外扩增技术

1953 年，Waston 和 Crick 提出的 DNA 双螺旋结构与半保留复制模型标志着医学分子遗传学核酸研究进入了一个全新的阶段，为催生基因体外扩增技术奠定了坚实的理论基础。1971 年，Khorana 等发表文章首次提出体外扩增基因的设想，但由于当时技术条件的限制而未被采纳。直到 1983 年，美国 Cetus 公司人类遗传学家 Mullis 发明了在分子生物学领域具有里程碑意义的聚合酶链反应（Polymerase Chain Reaction，PCR）技术，使体外基因扩增真正得以实现。1986—1988 年，随着耐热 DNA 聚合酶的分离纯化和使用，PCR 技术逐渐在分子生物学领域得到广泛应用。从 1989 年起，PCR 技术开始进入临床应用，并迅速成为临床分子遗传学检验最重要的技术平台。

（一）聚合酶链反应

聚合酶链反应是 1983 年由美国科学家 Mullis 等发明的一种试管内基因扩增技术。该技术能在数小时内针对性极强地将待检测的基因片段扩增上百万倍，从而使痕量的目的基因片段在实验室采用常规检测手段被检出。PCR 技术具有易操作、快速、准确、可靠等显著优点，在分子生物学领域得到最广泛应用，并获得 1993 年诺贝尔化学奖。常规 PCR 技术出现后，一方面继续衍生出诸如巢式 PCR、锚定 PCR、不对称 PCR、长片段 PCR 等技术，另一方面与其他分子生物学技术相结合，产生了如逆转录 PCR、PCR－RFLP、PCR－SSCP、PCR－ASO 等技术，这些都进一步拓展了 PCR 技术的应用范围。随着多学科的交融，尤其是结合先进的物理学技术，1998 年出现了一系列全自动荧光定量 PCR 检测技术，其中以 Taqman 技术为典型代表。该类技术将 PCR 扩增与分子荧光探针杂交融为一体，不仅提高了检测的特异性，而且克服了常规 PCR 技术不能进行起始模板量确定的不足，成为目前最精确的靶基因定量方法，使以 PCR 技术为代表的体外基因扩增技术的应用又迈上了一个新的台阶。

1. PCR 技术的基本原理与特点

PCR 技术是目前基因体外扩增技术的核心，其本质是分子核酸杂交和延伸。该技术扩增 DNA 片段的原理和过程与细胞周期 DNA 复制类似，唯一的区别在于其应用了 DNA 在不同温度条件下快速的复性变性这个物理特性，使 DNA 的复制能在体外高速地进行。常规 PCR 扩增 DNA 片段大致分为三个步骤：首先是双链模板 DNA 在临近沸点的温度条件下解

链成单链 DNA；然后在较低温度下形成引物和单链模板 DNA 的稳定杂交体；最后在中等温度下 DNA 聚合酶利用四种脱氧核苷三磷酸为原料，在杂交引物的引导下，按碱基互补原则合成新的 DNA 双链。完成上述三个温度条件下的一个循环后，模板 DNA 数量增加 1 倍，如此重复 35 个循环，则最后理论上模板 DNA 量可扩增 2^{35} 倍（如图 13－5 所示）。

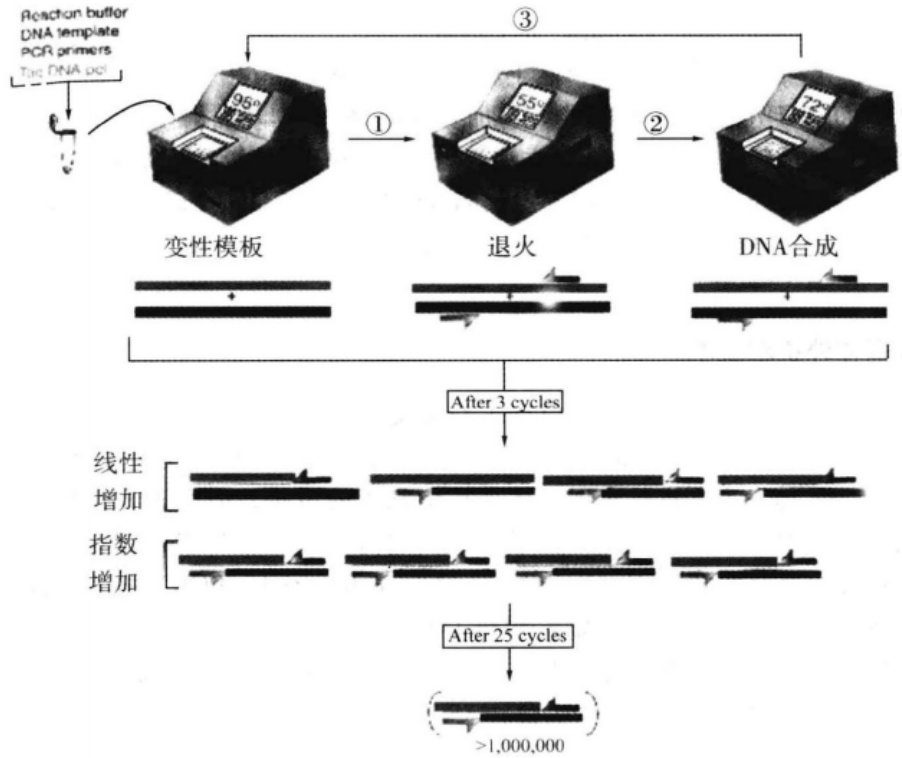


图 13－5 PCR 技术原理图

从上述基本原理不难看出，常规 PCR 有两个最基本的特点，即高灵敏度与高特异性。前者是指该技术对极其微量的模板 DNA 所进行的指数扩增，经过常规的 35 个循环，模板 DNA 可增加上百万倍，从而非常容易地被检测到；后者是指常规 PCR 选择性扩增 DNA 片段的针对性极强，通过设计与模板 DNA 完全互补的一对特异性寡核苷酸引物，扩增两引物间的 DNA 片段，扩增片段的特异性完全由引物序列的特异性决定，以两条引物共 40 个碱基为例，其序列的特异性高达 $1/4^{40}$，因此，在基因组中同时出现两处与两引物完全互补且扩增片段大小接近的序列几乎是不可能的，这正是常规 PCR 高特异性的保证。到目前为止，国外报道常规 PCR 扩增检测的灵敏度为 99%以上，特异性为 98%以上。

此外，常规 PCR 还具有操作简便、对标本要求低和快速等显著优点。在 PCR 技术出现以前，常规的分子核酸检测是提取大量基因组 DNA，然后用同位素等标记的寡核苷酸探针进行杂交检测。该方法不仅对标本量和质的要求甚高，而且操作复杂、耗时长。随着 PCR 技术的出现，检测中不再需要大量的 DNA 模板，对模板纯度的要求也迅速降低，尤其是耐热 DNA 聚合酶的广泛应用，常规 PCR 反应不再需要每个循环添加聚合酶，只需在扩增前将所有原料混匀，放入自动化扩增仪即可，因此操作非常方便。同时由于省去了杂交及放射自显影等步骤，使检测时间大为缩短，一次 PCR 反应与产物分析仅需 3 h～4 h 即可完成，充分体现了快速的优点。

2. PCR 反应体系的组成

（1）耐热 Taq DNA 聚合酶。

1986—1988 年，耐热 Taq DNA 聚合酶被分离纯化并应用于 PCR 反应中，从而带动了 PCR 技术在分子生物学领域的广泛应用。耐热 Taq DNA 聚合酶与早期 PCR 反应中使用的大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 相比较，具有耐高温和最佳聚合反应温度较高等明显优势，使 PCR 反应更加简便，扩增的特异性更好。

耐热 Taq DNA 聚合酶同时具有 5′→3′的 DNA 聚合活性与 5′→3′的核酸外切酶活性，前者是进行常规 PCR 中合成新链 DNA 的基本条件，后者则被巧妙地应用于近年来出现的一些荧光定量 PCR 技术中，如 Taqman 技术。由于耐热 Taq DNA 聚合酶在体外不具备 3′→5′的核酸外切酶活性，同时缺乏细胞内 DNA 复制时的其他纠错功能，因此与体内进行的 DNA 复制相比，基因体外扩增更容易发生碱基的错误配对。一般认为，细胞内 DNA 复制发生错误的几率大约是 $1/10^9$ 个核苷酸，而体外基因扩增发生碱基错配的可能性约为 $1/10^4$。尽管如此，在常规 PCR 中，由于扩增片段较小，加之可能发生错配的合成链在扩增产物中所占比例有限，因此这种合成过程中的碱基错配并不对检测结果造成大的影响。目前随着一些忠实程度更高的 DNA 合成酶如 Tth、Pfu 等的出现，该问题在常规检测中基本不予考虑。

在实际工作中，一个标准化的 PCR 反应体系中一般仅需加入 1 u～2 u 的耐热 Taq DNA 聚合酶。聚合酶浓度不当可导致扩增质量的下降，浓度过低，PCR 扩增效率低下，可导致扩增失败或产物检测困难；反之，浓度过高会引起错误扩增，进而造成竞争性抑制特异性靶基因扩增，甚至使特异扩增产物与非特异扩增难以区分。

目前，国内外各试剂公司均有高效价的商品化耐热 Taq DNA 聚合酶出售。

（2）寡核苷酸引物。

在 PCR 扩增中引物有引导新链合成的重要作用，是保证 PCR 扩增高灵敏度和高特异性的重要因素之一。在 PCR 技术中主要涉及引物的设计和引物用量两方面问题。首先是引物的序列设计，一般认为引物序列选择必须满足以下几个基本条件：

①每条引物的长度应在 16～25 个碱基。引物过短会降低扩增的特异性，造成非特异扩增增加，竞争性抑制特异扩增将降低扩增的灵敏度；引物过长则容易形成稳定的杂合体，同时还会使检测成本增加，引物合成的纯度下降，同样不利于实验。

②每条引物的 GC 含量应在 45%～55%，Tm 值在 55 ℃耐热 Taq DNA 聚合酶以上，Tm 值最简单的计算方法是 4(G+C)+2(A+T)。

③每条引物内或每对引物间不能有多个连续的互补碱基。

④每条引物自身形成的二级结构中，非环结构碱基配对数小于 3。

⑤两条引物各自的 3′端碱基不互补。

⑥每条引物均有 3′端与 5′端的方向性。

以上只是引物设计中应注意的一些基本问题。实际上影响引物作用的因素很多，在日常工作中，较多的是采用计算机软件进行辅助设计。

其次，在 PCR 反应中引物浓度也非常重要。一般认为终浓度 1 μM 能满足 PCR 反应的需要。在实际工作中，建议将最低引物浓度设在 0.3 μM 左右，过低将导致扩增效率的下降，过高可导致异位引导而使扩增的特异性下降。

除以上介绍的等位基因特异性的寡核苷酸引物的设计外，随着 PCR 技术的发展，针对不同的实验检测目的，有时还需要设计一些与 DNA 模板不完全互补的简并引物，甚至错配

引物等。另外，在一个 PCR 反应中有时需要两条以上的引物，如多重 PCR、半巢式 PCR 等。因此，在 PCR 反应中引物的设计和使用是多种多样的，许多衍生的 PCR 技术正是在引物设计上有许多独特的优势，从而建立了用途相对专一的技术平台。

目前，国内已有较多的公司能进行引物的 DNA 合成。

（3）脱氧核苷三磷酸。

在 PCR 反应中新链的合成是在引物引导下，耐热 Taq DNA 聚合酶发挥 5′→3′的 DNA 聚合活性，是以四种脱氧核苷三磷酸 dTTP、dATP、dCTP、dGTP 为基本原料完成的。因此，脱氧核苷三磷酸是 PCR 反应三个主要的化学成分之一。在 PCR 反应中，四种脱氧核苷三磷酸的浓度相对恒定，即各自的终浓度均为 0.2 mM，脱氧核苷三磷酸浓度不宜过高，否则会引起非特异扩增增加。由于脱氧核苷三磷酸要与游离的镁离子相结合，因此其终浓度的变化调整应同时注意镁离子浓度的增减。

目前，各生物试剂公司都有商品化的脱氧核苷三磷酸出售，使用也相当方便。

（4）模板 DNA。

PCR 反应的模板 DNA 可以是线形 DNA，如基因组 DNA 或 cDNA 等，亦可是环状 DNA，如质粒或线粒体 DNA 等，其中前者扩增优于后者。通常每个 PCR 反应体系中的模板 DNA 量在 0.1 μg～1 μg 基因组 DNA 之间，但实际上 PCR 反应对模板 DNA 的要求很低，这与既往杂交检测高纯度大量 DNA 的要求有很大区别。即使是 fg 级的模板 DNA，通过 PCR 扩增仍可达到检出的目的。同样，PCR 对 DNA 的纯度要求也很低，如在临床病原体检测中，标本经过高温裂解即可用于扩增，而无须进行 DNA 纯化等步骤。尽管如此，应注意在模板 DNA 溶液中的一些抑制 PCR 反应的化学物质仍可能使 PCR 扩增失败。在有这类情况发生时，方法一是将模板 DNA 溶液进行稀释，从而使抑制剂浓度下降到不至于影响 PCR 反应的程度；方法二是纯化模板 DNA 再用于扩增。

（5）PCR 反应缓冲液。

与细胞内的 DNA 复制类似，PCR 反应也需要一定的环境条件，包括各种金属离子、pH 值等。PCR 的标准缓冲液含有 50 mM KCl、10 mM Tris·Cl 和 1.5 mM $MgCl_2$。其中以镁离子浓度最为重要，在 PCR 反应中寻求一个最佳的镁离子浓度与扩增结果好坏密切相关，通常可以将 $MgCl_2$ 设置成不同的浓度，如 0.5 mM～5 mM，对不同浓度下扩增结果进行比较，从而获得最佳的镁离子浓度。应注意的是，模板 DNA 溶液中不应含有高浓度的 EDTA 等螯合剂以及磷酸根等高浓度的负电荷离子基团，其可导致 PCR 反应体系中游离的镁离子浓度的下降而影响扩增。目前在商品化的耐热 Taq DNA 聚合酶中，一般同时带有 10×PCR 缓冲液，不需自行配制。

（6）PCR 增强剂。

在 PCR 反应中，一些特殊的化学物质有促进 PCR 反应的作用，如 DMSO、PEG－6000、BSA 等，将其加入反应体系中可以提高 PCR 的产量，增强其特异性。

目前，部分试剂公司已有商品化的 PCR 增强剂出售。

（7）常用的 PCR 反应体系组成。

常用的 PCR 反应体系组成见表 13－2。

（8）PCR 加样中应注意的问题。

PCR 是目前核酸检测中的核心步骤，为保证 PCR 反应的成功进行，在各成分的混匀加样中务必注意一些实际问题，包括：①耐热 Taq DNA 聚合酶从－20 ℃冰箱拿出后，应置于

冰上；②脱氧核苷三磷酸应缓慢解冻，切勿加热，解冻后置于冰上；③寡核苷酸引物如果常规使用，可分成小体积置于 4 ℃保存，以免反复解冻；④模板 DNA 溶液使用体积一般控制在 5 μL 以下，否则 PCR 抑制剂可能影响结果；⑤根据各试剂的加样体积和溶液性质，最好固定一定的加样顺序，如去离子水、10×PCR 缓冲液、脱氧核苷三磷酸、寡核苷酸引物、耐热 Taq DNA 聚合酶；⑥目前为了获得更特异的 PCR 扩增产物，可采用热启动 PCR 的方法，即在反应温度升到 80 ℃以上时，才让所有的反应成分混合，这样可避免反应成分的预先混合后在低温下产生引物二聚体或非特异结合所造成的非特异扩增。但该方法由于成本较高，临床应用有限。

表 13－2　PCR 反应体系组成

PCR 组分	终浓度
耐热 Taq DNA 聚合酶	1.0 u/25 μL
寡核苷酸引物	0.2 μM～5 μM，通常 0.5 μM/每条
脱氧核苷三磷酸	200 μM 每种 dNTP
模板 DNA	(0.1 μg～1 μg) /25 μL
10×PCR 缓冲液	1×PCR 缓冲液
其他成分与去离子水	补足 25 μL 体积

3. PCR 反应的循环条件

（1）模板 DNA 变性。

双链 DNA 标本必须先经过高温变性，使其解链成单链 DNA 才有可能与引物结合形成杂合体，因此模板 DNA 变性非常重要。变性的温度一般在 92 ℃～95 ℃之间，温度过低，模板变性不彻底，可能减低扩增效率；温度过高，可能使耐热 Taq DNA 聚合酶活性下降过快，同样不利于 PCR 扩增。DNA 变性除温度要求外，对高温持续的时间亦需严格掌握，一般常规 PCR 在进入循环前，需要一个持续时间较长的高温状态，通常 3 min～5 min，以利于双链 DNA 的充分变性，进入循环后，每个循环变性持续时间一般在 30 s～45 s。变性时间长短对 PCR 扩增的影响与温度类似。

（2）引物与单链模板复性。

PCR 循环第二个步骤是低温复性，随着反应体系温度从高温迅速下降到低温，体系内发生各种复性反应，包括原有 DNA 双链自身复性和 DNA 单链与引物复性，其中后者是实验所需的。由于体系中引物分子数量巨大，因此肯定有部分引物能与 DNA 单链模板形成稳定的杂交体，从而为新链延伸提供必要条件。PCR 反应复性温度的控制非常重要，一般围绕引物序列的 Tm 值确定，通常在 55 ℃～65 ℃之间。温度过低可造成较多的非特异扩增，温度过高虽然为反应提供了更严格的条件，但也可能使靶基因扩增失败。因此，通过实验选择一个合适的复性温度是 PCR 实验中经常面临的问题。至于复性时间，一般 30 s～45 s 可以满足常规 PCR 的要求。

（3）引物延伸与新链合成。

PCR 循环第三步是中温延伸，即在耐热 Taq DNA 聚合酶的作用下，以结合在单链 DNA 上的引物为引导，利用体系中的脱氧核苷三磷酸为原料，根据碱基互补原则，新链不断合成。该步骤的温度一般在 72 ℃，该温度最有利于耐热 Taq DNA 聚合酶发挥聚合作用。

其持续的时间与扩增的靶片段长度有关，片段越长，时间越长，一般 45 s～90 s 已能满足常规 PCR 的要求，持续时间过长可导致非特异扩增。

（4）常用的 PCR 反应条件。

常用的 PCR 反应条件见表 13－3。

表 13－3 PCR 反应条件

步骤		温度	持续时间
预变性	25～35 个循环	92 ℃～95 ℃	3 min～5 min
变性		92 ℃～95 ℃	30 s～45 s
复性		55 ℃～65 ℃	30 s～45 s
延伸		72 ℃	45 s～90 s
充分延伸		72 ℃	5 min

（5）PCR 条件设置应注意的问题。

在 PCR 循环条件中，应注意：①复性温度的摸索是最常见的，可先设置 55 ℃，如果非特异扩增较多，依次升高 1 ℃～2 ℃，直到得到较好的扩增产物；②PCR 反应中高温时间最好不要超过 1 min，以免 DNA 聚合酶失活过快；③在一些 PCR 反应中，由于复性温度与延伸温度接近，可以把复性与延伸合并，进而形成两步法扩增，但这种情况下第二步的时间相应延长至 60 s～90 s；④在一些衍生的 PCR 技术中，如多重 PCR 等，扩增条件应作相应的变动。

4. PCR 产物的分析

PCR 反应只是将获得的微量 DNA 标本在体外进行了靶基因片段的充分扩增，还必须有相应的扩增产物检测方法才能进行观察，目前最常用的常规 PCR 产物检测方法是琼脂糖凝胶电泳结合溴化乙啶染色和聚丙烯酰胺凝胶电泳结合银染显色技术。

1）琼脂糖凝胶电泳

琼脂糖凝胶电泳是实验室最常用的分离鉴定 DNA 片段的方法，将荧光染料溴化乙啶加入琼脂糖凝胶，在电泳后直接在紫外光下可见橙红色的 DNA 条带，其检出的灵敏度可达 1 ng以上的 DNA。在琼脂糖凝胶电泳时应注意以下几个方面的问题。

（1）琼脂糖浓度与有效分离范围。

电泳中琼脂糖的使用浓度取决于待检测的靶片段的长短，不同的浓度有不同的 DNA 分子有效分离范围，由于常规 PCR 通常的扩增片段在 100～600 个碱基，因此可选择表 13－4 中的浓度。

表 13－4 琼脂糖分离 DNA 片段的有效范围

琼脂糖浓度（%，w/v）	DNA 的有效分离范围（kb）
1.2	0.4～6
1.5	0.2～3
2.0	0.1～2

（2）电泳电压与电泳时间。

电泳电压的变化要影响琼脂糖的有效分离范围，因此在常规 PCR 产物的分离时，所加

电压一般在 10 V/cm～15 V/cm，电泳时间在 20 min～40 min。电压过大不仅会降低有效分离范围，而且由于电流过大会导致琼脂糖温度过度升高，引起溴化乙啶的蒸发，对环境造成危害。

（3）溴化乙啶的使用。

作为一种琼脂糖中 DNA 的染色剂，首先要指出它是一种中度毒性的强诱变剂，使用过程中必须加强自我保护，含溴化乙啶的废液必须经净化处理去除溴化乙啶后才能丢弃，否则会造成环境污染。

溴化乙啶的储存浓度通常为 10 mg/mL，室温避光保存，在琼脂糖中终浓度为 0.5 μg/mL，也可以上述浓度加入电泳缓冲液中电泳或电泳后用含溴化乙啶的溶液浸泡，但由于易扩大污染，建议直接混入琼脂糖凝胶中使用。

在电泳中溴化乙啶也要发生迁移，其方向与 DNA 相反，因此在经过较长时间电泳后，可以发现琼脂糖凝胶的负极端荧光强度明显低于正极。此为正常现象，但也提示电泳时间不宜过长，以免过多的溴化乙啶进入电泳缓冲液。琼脂糖可以反复使用，但更容易造成实验室污染，因此并不提倡。

（4）电泳缓冲液。

电泳缓冲液的作用是为电泳提供足够的离子强度，使 DNA 在琼脂糖中发生迁移。目前较为常用的缓冲液是 TAE 与 TBE，其中 TBE 由于能提供更强的缓冲容量，因此在实验中被广泛使用。二者的基本组成见表 13－5。

表 13－5　电泳缓冲液组成与配置

缓冲液	使用液	储存液
TAE	1×：0.04 M Tris－乙酸 0.01M EDTA	50×：242 g Tris 碱 57.1 mL 冰乙酸
TBE	0.5×：0.045 M Tris－硼酸 0.01 M EDTA	5×：54 g Tris 碱 27.5 g 硼酸 20 mL 0.5 mM EDTA（pH8.0）

电泳缓冲液使用量以淹没凝胶为准，琼脂糖凝胶配制时使用的缓冲液应与电泳缓冲液一致。由于电泳缓冲液一般均重复使用，因此进入其中的溴化乙啶也是实验室的污染源之一。另外，缓冲液的重复使用一般不应超过 3 次，以免其 pH 值的变化影响电泳效果。

（5）电泳上样缓冲液。

在 PCR 产物电泳上样前，必须与上样缓冲液混合，其目的主要是：增加产物密度，使上样孔中的产物 DNA 更易沉入孔底；上样缓冲液起着颜色指示剂的作用，使电泳操作更为方便；缓冲液中的溴酚蓝在电泳中有一定的迁移率，可以提示产物 DNA 移动的距离，有助于判断电泳结束的时间。常规使用的双链 DNA 电泳上样缓冲液类型见表 13－6。

（6）PCR 产物的观察。

将电泳完毕的琼脂糖凝胶置于 254 nm 或 302 nm 的紫外光照射下，可以清楚地看到 PCR 产物所产生的 DNA 条带。由于强紫外光对角膜和皮肤的损害，建议在观察时戴眼镜，持续时间不宜过长。

表 13－6 常规使用的双链 DNA 电泳上样缓冲液类型

缓冲液类型	6×缓冲液	储存温度
I	0.25%溴酚蓝 0.25%二甲苯青 FF 40%（w/v）蔗糖水溶液	4 ℃
II	0.25%溴酚蓝 0.25%二甲苯青 FF 15%聚蔗糖水溶液	室温
III	0.25%溴酚蓝 40%（w/v）蔗糖水溶液	4 ℃

（7）琼脂糖电泳中应注意的问题。

琼脂糖电泳是 PCR 产物最常用的检测手段，与其他检测相比更方便快速，但在电泳操作中应注意一些实际问题：①根据产物片段大小选择最佳的琼脂糖浓度；②电泳电压不宜过大，以免琼脂糖分辨率下降；③当电泳目的是分离产物片段时，可适当延长电泳时间；④琼脂糖胶与电泳缓冲液不应长时间使用，一般使用 3 次后应更换，同时冲洗电泳槽；⑤凡是操作中涉及溴化乙啶，均应戴一次性手套以加强自我保护。

2）聚丙烯酰胺凝胶电泳

聚丙烯酰胺凝胶电泳是 PCR 产物检测的重要方法之一，其与琼脂糖电泳相比较，特别适合于片段大小相近的多个 PCR 产物的分离，分辨率可高达 1 个碱基/500 个碱基片段。在基因诊断中可用于基因突变筛查、微卫星等位基因分析等。但聚丙烯酰胺凝胶电泳操作较琼脂糖电泳复杂，成本也较高。

（1）聚丙烯酰胺凝胶浓度与有效分离范围。

聚丙烯酰胺凝胶的 DNA 片段有效分离范围见表 13－7。

表 13－7 聚丙烯酰胺凝胶的 DNA 片段有效分离范围

聚丙烯酰胺（%，w/v）	有效分离范围（bp）
8.0	60～400
12.0	40～200
20.0	6～100

（2）非变性聚丙烯酰胺凝胶的制备。

首先需配置如下储存液：

①30%丙烯酰胺（29∶1）。

丙烯酰胺 29 g，N，N’－亚甲双丙烯酰胺 1 g，加水至 100 mL，4 ℃保存。

②10×TBE。

方法同前。

③10%过硫酸铵。

过硫酸铵 1 g，加水至 10 mL，4 ℃保存。

不同浓度的聚丙烯酰胺凝胶配置见表 13－8。

表 13-8　不同浓度的聚丙烯酰胺凝胶配置

10%过硫酸铵试剂（mL）	8.0	12.0	20.0
30%丙烯酰胺（mL）	26.6	40.0	66.6
10×TBE（mL）	10.0	10.0	10.0
10%过硫酸铵（mL）	0.7	0.7	0.7
TEMED（mL）	0.035	0.035	0.035
水（mL）	62.7	43.9	22.7

（3）电泳玻板的硅化处理。

由于聚丙烯酰胺凝胶电泳一般均是将凝胶灌入两块玻璃板之间实现的，在电泳结束后，必须将两块玻板分开，以进一步染色观察，因此在灌胶前需要先硅化玻板，使玻板分开时凝胶能牢固地附着在其中一块玻板上，同时另一块玻板不会因为粘连而使凝胶破裂，所以两块玻板分别用亲和硅烷与排斥硅烷处理，具体方法如下：

①排斥硅烷处理。

玻板洗净后，用无水乙醇洗一次，然后加入氯仿 1 mL 和排斥硅烷 50 μL，混匀后均匀涂抹于玻板上，并标记。干燥后用无水乙醇洗一次即可使用。

②亲和硅烷处理。

玻板洗净后，用无水乙醇洗一次，然后加入无水乙醇 1.33 mL、冰乙酸 330 μL、亲和硅烷 4 μL，混匀后均匀涂抹于玻板上，并标记。干燥后用无水乙醇洗一次即可使用。

（4）聚丙烯酰胺凝胶电泳的条件。

①电压。

聚丙烯酰胺凝胶电泳对电压的要求更高，一般需要高压电源，电压 5 V/cm～15 V/cm。电压过高可能导致电流过大而使凝胶温度升高或不均匀，产生电泳条带发生弯曲等现象而不利于判读，尤其是当电泳槽无循环冷却水时更应适当控制电压。

②电泳缓冲液。

聚丙烯酰胺凝胶电泳所需要的缓冲强度比琼脂糖更大，因此常规使用 1×TBE 作为电泳缓冲液，可反复使用，但一般不超过 3 次。

（5）聚丙烯酰胺凝胶电泳结果的观察。

以往电泳后可用溴化乙啶染色，但该方法污染较重，因此现在很少使用。另外，同位素标记引物或参入合成，放射自显影读取结果也是常用的方法，但该法存在同位素污染等问题，在大多数实验室已基本不用。目前使用较广泛的检测方法是 DNA 银染，步骤如下：

①电泳后将玻板分离，将附着凝胶的玻板放入双蒸水中清洗 1 次。

②倒去双蒸水，用 10%的乙醇固定 10 min。

③双蒸水清洗 1 次后，用 1%的硝酸浸泡 10 min。

④双蒸水清洗 1 次后，用 0.2%的硝酸银浸泡 30 min。

⑤双蒸水清洗 1 次后，用新鲜配制的 3%碳酸钠浸泡，直至 DNA 条带显影。

⑥10%冰乙酸浸泡定影。

DNA 银染的灵敏度比溴化乙啶染色更高，与同位素放射自显影相近，但其操作更简便、无污染及快速等优点显著。在操作中，各步时间并不是一成不变的，可根据实验室的情况自

行摸索。需要注意的是，硝酸银溶液和碳酸钠溶液应保持新鲜，否则可能影响银染效果。另外，在室温较低的冬季，为保证较快显色，可在碳酸钠显色时，将溶液温度升高至 40 ℃左右。

（6）聚丙烯酰胺凝胶电泳应注意的问题。

聚丙烯酰胺凝胶电泳操作较复杂，因此应尽量保证一次实验的效果，以避免重复。在实验中应注意：①灌胶时应快速稳妥，以避免时间过长导致未注入的液状凝胶凝固，必要时可将盛有液状凝胶的容器置于冰水中；②灌胶时应匀速，避免产生气泡而影响 DNA 条带的迁移；③在凝胶交联凝固后点样，届时可根据梳齿底部的折光度变化观察；④点样前可先在低电压下预电泳 30 min，以使凝胶保持均一状态；⑤电泳时间的长短以片段分离效果来决定，应注意上样缓冲液中颜色指示剂与片段的相对迁移速度和距离，以免片段逸出凝胶。

5. PCR 的常见问题与解决办法

PCR 的原理虽然比较简单，但其结果的不确定性非常强，PCR 反应所涉及的各成分之间相互作用与相互影响的复杂程度是其他分子生物学技术无法比拟的，因此在常规 PCR 的实验中，经常会遇到各种问题，而要解决这些问题则需要对 PCR 有比较深刻的认识。

（1）无预期片段的扩增。

常见原因如下：

①Taq DNA 聚合酶活性丧失。

②模板 DNA 污染、降解或使用浓度过高。

③dNTP 失效。

④使用未含镁离子的反应缓冲液或镁离子浓度过低。

⑤操作误差，某种试剂未加入反应体系。

⑥PCR 复性温度过高。

⑦仪器控温故障。

基本解决措施如下：

①观察仪器温度控制的精确度。

②换用其他实验证实有效的 Taq DNA 聚合酶。

③换用其他实验证实有效的 dNTP。

④降低 PCR 复性温度。

⑤提高镁离子浓度。

⑥加入 BSA、DMSO 等 PCR 增强剂。

⑦将一定量的模板 DNA 溶液（如 5 μL～10 μL）进行琼脂糖电泳，观察有无明显基因组 DNA 存在，如果没有，适当加大模板 DNA 用量。

⑧如果电泳有明显基因组 DNA，可稀释模板 DNA，与第一次同等量扩增。

⑨选用一对 PCR 各种条件均明确的引物，对模板 DNA 进行扩增。若仍无扩增，则提示模板 DNA 问题。

（2）非特异扩增产物过多。

常见原因如下：

①PCR 复性温度过低。

②Taq DNA 聚合酶使用量过大。

③镁离子浓度过高。

④引物浓度过大。

⑤模板 DNA 用量过大。

⑥仪器控温故障。

基本解决措施如下：

①观察仪器温度控制的精确度。

②提高 PCR 复性温度。

③降低镁离子浓度。

④降低引物浓度。

⑤减小模板 DNA 用量。

⑥减少 PCR 循环次数。

（3）商品化试剂扩增无预期产物。

常见原因如下：

①试剂失效。

②仪器控温不准确。

③核酸模板溶液存在较多的抑制 PCR 反应化学成分。

④核酸模板扩增位点变异导致引物不能结合或杂交不稳固。

基本解决措施如下：

①设置外阳性对照。

②稀释核酸模板溶液或蛋白酶 K 消化重提取核酸。

③换用其他公司试剂以扩增靶基因的其他位点。

6. 常规 PCR 的局限性

常规 PCR 以其不可替代的技术优势而被广泛应用于分子生物学的各个领域，并很快成为核心技术，然而它有四个方面的缺陷限制了它在临床上的应用，目前认为常规 PCR 的临床应用是以结合其他分子生物学技术（如核酸杂交）或检测的重复一致性为基础的。下面介绍常规 PCR 在四个方面的不足之处。

（1）易污染。

常规 PCR 检测的高灵敏度决定了其发生污染的高风险性，这种污染不同于以往其他技术所涉及的范畴，而主要是指实验室内的 PCR 产物污染。在防污染措施比较严格的实验室，污染源常常是 PCR 扩增结束后，进行开管的产物检测过程中，含有 PCR 产物的气溶胶逸入空气，进而掉入新扩增管造成的，因此在进行常规 PCR－电泳检测时，比较容易出现实验室污染。

在实验室应建立污染预警机制，常规设置阴性对照，一旦发现大范围的假阳性，应考虑实验室污染。首先必须明确污染的来源，以避免污染的扩大；实验室应及时停止同种 PCR 扩增；如果必须继续进行检测，应变更实验场所以及所用的器材和工具；对实验室进行全面的防污染处理，包括加强空气流动、稀酸擦拭用具与台面、近距离紫外照射等；在处理后，PCR 扩增阴性对照以确定污染是否消除。

由于 PCR 的实验室污染一旦发生，寻找原因和消除污染比较困难，因此，目前实验室采取了一些有效的预防性措施，包括：①使用 dUTP-UNG 酶系统，利用 UNG 酶降解含尿嘧啶的 DNA 模板的特性，防止 PCR 产物污染。该方法在广泛应用中已被证实能有效防止 PCR 产物分子污染。②提升 PCR 产物检测的技术，利用完全闭管操作防止 PCR 产物外逸。

目前荧光检测技术是一个典型的例子。③严格 PCR 检测环境条件的要求。PCR 扩增实验室必须将 PCR 产物检测前操作与 PCR 产物检测在空间上严格区分，并设计为单向走动，在最大限度上防止 PCR 产物对新扩增的影响；同时各区域使用的器具必须严格固定，不得随意搬动等。

PCR 扩增的污染一直是困扰其临床使用的核心问题。如何最大限度地避免污染是摆在每个基因扩增实验室面前的难题。这就促使每个从业人员必须严格按照操作规程进行实验，这样才能尽量避免污染的发生。

（2）不能定量检测。

常规 PCR 的定性能力是毋庸置疑的，但缺乏对起始模板量的精确定量能力，这就限制了它的临床应用。众所周知，PCR 对模板 DNA 的扩增分为三个时期，即指数前期、指数期和平台期，其中在不考虑扩增效率差异的前提下，扩增指数期的起始点循环数与起始模板量有一定的函数关系。然而常规 PCR 是一个无法实时检测的过程，因此根本不知道扩增指数期的起始点循环数，也不知道何时进入平台期。在 35 个循环结束时，扩增可能已进入平台期，而不同起始模板量的扩增可能在平台期的 DNA 产量相近，因此无法准确确定起始模板量。

在临床实际中，对病情的观察和疗效的确定都需要进行定量检测，因此常规 PCR 无法承担这一工作。目前，PCR 技术与荧光实时检测技术的结合为精确的定量检测开辟了一条道路，并被应用于临床病原体定量检测中。

（3）特异性不能得到很好保证。

常规 PCR 的特异性由引物序列的特异性决定，每对引物共 40～50 个连续的碱基，在理论上其序列的特异性极高，在各种生物基因组 DNA 中出现与引物序列完全互补的两个位点几乎不可能发生。但即便如此，常规 PCR 产物中仍然有许多非特异扩增出现，出现这种情况主要有两个基本原因：一是扩增时少数碱基错配造成错误引导，故而扩增出非靶序列；二是引物自身复性延伸，形成大量的二聚体等。因此不难看出，常规 PCR 产物检测的干扰因素较多，甚至造成结果判断的困难。

常规 PCR 的特异性可以通过 PCR 产物杂交来解决，即通过杂交，利用特异性探针对 PCR 产物内部碱基序列进行鉴定，以确定 PCR 产物是否是待检的靶序列。以前的核酸杂交需要用同位素等标记，操作复杂，污染重，所需时间长，并不适合于临床使用。目前采用荧光技术结合 Taq DNA 聚合酶的核酸外切酶活性进行检测，不仅保证了 PCR 扩增的高灵敏度，而且由于加入了一条与靶序列互补的特异探针，使 PCR 扩增与杂交同时完成，极大地提高了 PCR 检测的特异性。

（4）人为因素影响明显。

常规 PCR 的整个操作均由人工完成，尤其是结果判读中人为因素影响极大。在经验不足的实验室，人为因素的干扰是造成结果判断错误的主要原因。因此，可以认为人的因素在常规 PCR 检测中占有举足轻重的作用。

在常规 PCR 中，人为因素造成实验误差可能有如下原因：人员素质低下，对分子生物学了解极其有限，无法独立作出判断或判断错误；实验室质量控制能力差，出现实验室污染而导致假性结果；实验操作人员无可执行的相对固定与规范的实验程序，随意性大，造成 PCR 操作某个环节被忽略或错误执行，导致假性结果；操作人员不能认识和分析电泳结果，直接造成判读错误，这是最常见的原因。

在常规 PCR 工作中，人的因素也是比较难以避免的问题，这也正是现在临床病原体基因检测中不提倡使用常规 PCR－电泳方法的主要原因之一。但在遗传病基因诊断中不可避免地要使用常规 PCR 技术。因此针对上述问题，可以从三个方面着手解决：首先加强人员素质培养，包括业务素质和认真、仔细、负责的精神，以提高操作人员判断和分析问题的能力；其次，加强实验室质量控制工作，从制度上保证检测结果的可靠性；最后，以检测结果的可重复性保证其准确性。

（二）其他 PCR 相关技术

以 PCR 基本原理为基础，常规 PCR 技术出现后，许多研究者根据自身的工作需要，对 PCR 技术进行了一些改进，先后发展出一些新的 PCR 技术。下面简要介绍几种常用的 PCR 相关技术。

1. 多重 PCR（multi-PCR）

正如前面介绍的 DMD 直接基因诊断，多重 PCR 在临床中也被广泛应用。其基本原理是在一个 PCR 反应体系中，有两对或两对以上的引物，共用相同的模板 DNA，分别扩增模板 DNA 上不同的基因位点。由于扩增的基因片段长度上有差异，因此常规用琼脂糖凝胶电泳可将其不同片段分离。

多重 PCR 的最大优点是简并性和较高的检测通量，与常规 PCR 相比也更加经济，但有更高的技术要求，尤其是引物设计。多重 PCR 的困难之处在于如何控制各对引物在相同的条件下均有较好的扩增效率，而且非特异扩增必须控制在最低程度，因此对其操作需要较专业的实验室或较现成的试剂盒。

与常规 PCR 相比，多重 PCR 扩增的各成分作了如下调整：引物长度在 25～35 个碱基，以增加引物与模板结合的稳定性和扩增的特异性，避免非特异扩增影响结果判读；引物用量适当提高；各引物的 Tm 值接近，以便于在相同扩增条件下进行反应；引物之间的相互作用应降低到最低程度，避免过多的引物聚合体形成；反应体系中 dNTP 与镁离子浓度适当提高，避免竞争抑制发生；反应体系中缓冲液有两个选择，一是提高缓冲液终浓度，如采用（1.6～2）×缓冲液，二是采用多重 PCR 专用缓冲液，其组成为（5×）：83 mM $(NH_4)_2SO_4$、335 mM Tris-HCl（pH8.8）、33.5 mM $MgCl_2$、50 mM β－Mercapthoethanol、34 mM EDTA；Taq DNA 聚合酶的用量可适度增加。其他条件与常规 PCR 基本一致。

在实际应用中，考虑到许多非确定因素的影响，多重 PCR 扩增结果，尤其是当发现某对引物无扩增时，必须单独重复扩增以验证。

多重 PCR 在临床检测中应用较多，尤其在对一个基因或区域多个位点进行筛查时，如 DMD 基因缺失诊断、男性原发无精/寡精 Y 染色体 AZF 区域微缺失诊断、地中海贫血特异性寡核苷酸探针基因突变筛查等。

2. 巢式 PCR（nested-PCR）

巢式 PCR 又称套式 PCR，其基本原理是设计一对外侧引物与一对内侧引物依次扩增同一个基因位点，最后对内侧引物扩增的 PCR 产物进行检测。巢式 PCR 的最大优点是能对极低浓度的模板 DNA 进行高灵敏度检测。但它也存在对 PCR 产物进行操作而易发生实验室污染的问题。

在巢式 PCR 的操作中，特别应注意防止 PCR 产物的污染，用内侧引物做第二次 PCR 扩增时，应控制模板体积。在实际应用中，巢式 PCR 扩增必须有阴性对照。

3. 长距离 PCR（long-PCR）

长距离 PCR 是一种能扩增 5 kb 以上基因片段的方法。与常规 PCR 相比，其对扩增区域变化的适应性强，在临床中尤其适合于动态突变疾病基序重复异常扩展等位基因的基因诊断。

在长距离 PCR 的操作中，有一些与常规 PCR 不同的地方。首先是长距离 PCR 扩增对模板 DNA 的要求远远高于常规 PCR，必须有高质量的 DNA 提取，才能提供扩增所需的完整模板。就基因组模板 DNA 的浓度而言，其最小用量应在 25 ng 以上。其次，长距离 PCR 的引物设计和使用浓度与常规 PCR 差别不大，但要注意避免引物之间 3′端的互补和 3′端的二级结构，以免产生非特异扩增而抑制降低靶序列的产量。最后，用于长距离 PCR 的 DNA 聚合酶必须是高忠实性的，只具有 5′→3′端核酸外切酶活性的聚合酶优于有 3′→5′端核酸外切酶活性的聚合酶，将活性不同的热稳定性 DNA 聚合酶联合使用，将更有利于长片段的扩增。长距离 PCR 缓冲液组成以 rTth DNA 聚合酶为例，有如下成分：5%甘油、25 mM Tris-HCl（pH8.9）、100 mM KCl、0.75 mM EGTA、0.05%Tween 20、2.5 mM $MgCl_2$、0.01%明胶。

长距离 PCR 扩增循环条件如下：

95 ℃　10 s

58 ℃　30 s

72 ℃　3 min

10 个循环

95 ℃　10 s

58 ℃　30 s

72 ℃　3 min　每个循环自动增加 30 s

20 个循环

长距离 PCR 操作的难度较大，在专业实验室可自行完成，但在经验缺乏的实验室成功率较低，因此可购买一些公司的成熟产品。

4. 逆转录 PCR（RT-PCR）

RT-PCR 是由逆转录和 PCR 两部分组成。其中逆转录的目的是将标本中的基因表达产物 mRNA 通过逆转录酶的作用生成 cDNA，PCR 就是对 cDNA 模板的扩增。因此，RT-PCR 实际上是一种检测基因表达产物的方法。

RT-PCR 方法使 mRNA 的体外高灵敏度检测成为可能，尤其是一步法 RT-PCR 将逆转录酶与 DNA 聚合酶放在一个反应体系中，可使 RT-PCR 连续进行而中途无须开管添加任何试剂，使操作更加方便快速；同时使 cDNA 得到充分利用，扩增成功率大大提高，对低丰度 mRNA 的检出能力大为增强。目前大多数分子生物学试剂公司有成熟的一步法 RT-PCR 试剂盒，应用非常方便。

在临床应用中，白血病特异性融合基因 mRNA 的检测是一个典型的例子。直接检测引发肿瘤的各种特异性融合基因的表达产物，如慢性粒细胞性白血病（CML）的 BCR-ABL、急性早幼粒白血病（ALL）的 PML-RARA 等，其敏感性可达到每 10^6 个正常细胞中检出 1 个白血病细胞，大约是细胞遗传学检测的1 000倍。在融合基因的转录产物检测中，10～100 个 mRNA 分子即能被检测到，其检测灵敏度极高。尤其是结合荧光定量技术，使基因表达的精确定量成为可能，在白血病的临床分型诊断、个体化治疗方案的制定、治疗效果监测、

缓解后复发风险的估计和预防、干细胞移植后残留病的检测和提示早期干预治疗等方面具有重要的指导意义。

5. 定量 PCR 技术（quantification PCR）

20 世纪 90 年代中期，出现了一种以实时检测 PCR 为核心的起始 DNA 模板定量技术，使 PCR 技术的定量分析成为可能，极大地提升了其临床的实用性。该技术将 PCR 与荧光实时检测结合在一起，实现了 PCR 的全过程监测，能够准确地判断 PCR 进入指数增长期的循环数，根据这一数值与模板 DNA 起始拷贝数的函数关系，以标准品建立的标准曲线为依据，可以精确地计算出标本的模板 DNA 的起始拷贝数，是目前最为准确的检测方法。

定量 PCR 技术在临床上可被用于病原体的定量检测，以检测病情和观察疗效。同时在白血病特异性融合基因表达产物的定量检测上也具有独特的优势。

6. 原位 PCR 技术（in-situ PCR）

原位 PCR 是 Hasse 等 1990 年建立的分子—细胞生物学领域里的一项新技术，主要是指在组织细胞里进行聚合酶链反应，在不改变靶基因在基因组中的位置的前提下进行体外基因扩增，它同时具备原位杂交的定位能力和 PCR 技术的高敏感性的优点，其特异性和敏感性高于常规 PCR，在临床中有较高的应用价值。

原位 PCR 技术有其独到的特点，一方面能检测确定带有靶基因序列的细胞，另一方面又能明确靶基因序列在细胞内的位置，因此，它对分子—细胞水平上进行临床检测有重大的实用价值。

原位 PCR 实验用的标本来源可以多种多样，如新鲜组织、石蜡包埋组织等。其基本程序如下：①固定组织：将组织固定于预先用四氟乙烯包被的玻片上，并用多聚甲醛处理，再灭活除去细胞内源性过氧化物酶；②蛋白酶 K 消化：用 60 μg/mL 的蛋白酶 K 将固定好的组织细胞片在 55 ℃下消化处理 2 h，96 ℃、2 min 灭活蛋白酶 K；③PCR 扩增：在组织片上，加 PCR 反应液，覆盖并加液状石蜡后，直接放在原位扩增仪上，进行 PCR 循环扩增；④杂交：PCR 扩增结束后，用荧光等标记的寡核苷酸探针进行原位杂交；⑤显微镜观察结果。

原位 PCR 技术与荧光原位杂交（FISH）有相似之处，都是很有潜力的方法。

7. 酶联免疫 PCR（ELISA-PCR）

将免疫检测技术与核酸检测技术相结合，是近年发展起来的新核酸检测技术，根据采用的免疫方法的微小差异，已派生出较多的酶联免疫 PCR 方法，这些方法的共同特点是将 PCR 技术的高灵敏度与酶联免疫的高特异性相结合，以进一步提高临床检测的可靠性。

目前比较成熟的酶联免疫 PCR 技术是 PCR 微孔板核酸杂交 ELISA 技术，该技术将基因扩增、核酸杂交与酶联显色等技术融为一体，其具体的原理是合成一对特异性引物。通过常规 PCR 反应获得靶基因片段，高温变性获得较多的单链 DNA，由于其一端序列与微孔板上固定的捕捉探针游离端互补，因此当变性后的 PCR 单链产物被加入微孔板后，部分会与捕捉探针发生核酸杂交。另外，杂交体系中还加入了生物素标记的显色探针，其部分序列与 PCR 产物另一端碱基序列互补，因此同时也发生二者的杂交反应，故这时在微孔板中会出现较多的杂交三联体，并通过捕捉探针固定在微孔板中，这时通过洗涤，可以将未发生杂交的 PCR 产物与显色探针去掉，留在微孔板中的仅是杂交三联体，再在微孔板中依次加入酶标记物和显色底物，通过微孔板颜色变化可以作出判断。

该方法的最大优点是进一步提高了核酸检测的特异性，并且不需要昂贵的硬件设备，在一般的医疗机构中即可使用操作。但我们应看到，该方法的缺点也比较明显，即操作程序较

复杂，从理论上并非所有的 PCR 产物都能被用于检测，因此其灵敏度受限；另外，对 PCR 产物的操作程序较多，使实验室污染的可能被大大提高。当然，目前采用的 UNG－dUTP 系统可以在一定程度上避免 PCR 产物的实验室污染，但该技术对实验空间的使用要求也明显高于其他方法，操作人员必须有强烈的防污染意识，这些都对该技术的应用带来限制。

上面介绍了一些目前在临床上已有应用的 PCR 衍生技术，这些技术的出现和发展不是偶然的，而是解决 PCR 技术临床应用所遭遇问题的必然反应，因此，这些技术都有其不尽相同的技术特点和应用范围。其他尚有一些技术，如反向 PCR、不对称 PCR、简并引物 PCR、锚定 PCR、膜结合 PCR、膪断 PCR 等，比较多地在科学研究实验中应用。这些 PCR 派生的技术都具有解决实际工作中某一方面问题的能力，而且它们的联合应用也发挥着更巨大的技术优势。

三、核酸定量荧光实时检测技术

核酸定量检测技术实际上并不是一个崭新的概念，在常规 PCR 技术出现后，就有研究者提出在定性的基础上发展核酸的定量技术。然而，众所周知，常规 PCR 技术只是一个基因体外扩增的核酸定性检测技术，整个反应过程经历了相对静止期、指数增长期与平台期几个阶段，而 PCR 反应的过程无法得到监测，当 PCR 终止在某个循环时，不知其具体处于哪一个时期，因此，PCR 终末点产物量与标本中起始模板量之间缺乏明确的函数关系，使常规 PCR 定量检测困难重重。

尽管如此，研究者仍努力建立了多种定量 PCR 方法，其中最为可靠的是竞争 PCR。其基本原理是在 PCR 体系中，除待检的靶序列外，还含有固定量的竞争序列模板，这种模板可以是质粒或人工合成的核酸片段，其特点是含有与靶序列共同的引物结合序列，这样当 PCR 进行时，引物会同时杂交到靶序列和竞争序列上，由于引物相同，它们具有相同的杂交效率和延伸效率，并同时获得两个扩增片段。更由于两个扩增片段的长短不一，可以在琼脂糖凝胶上方便地将其分离。当我们使用 N 个浓度梯度的竞争子与相同模板量的靶序列分别共同扩增后，可以得到 N 管产物；通过电泳，N 管 PCR 产物中的两个片段被分离，进行电泳条带的灰度比较，找到竞争序列和靶序列扩增片段灰度最为接近的一管。这管竞争序列的起始拷贝数与靶序列起始拷贝数最为接近或一致。

竞争 PCR 方法进行靶基因起始量的确定一直以来被认为是最为准确的核酸定量方法，然而它也具有如下难以克服的缺陷：①理想的竞争子制备程序复杂：该技术的基础是获得理想的竞争子。采用含引物序列的质粒作为竞争子是一个较常用的方法，而竞争片段的获得、插入质粒、细菌中复制与质粒 DNA 的提取是一个繁琐的工作；采用 PCR 产物直接作为竞争子有如下问题，一是难以确定竞争子拷贝数，二是容易发生实验室污染。这导致必须由专业的实验室花费较多的时间才能获得理想的竞争子。②竞争子的针对性太强：一个靶基因的引物必须有一个相应的竞争子，这使实验的开放性受到限制。③定量检测只是相对的：通过竞争子扩增片段的灰度与靶基因扩增片段的灰度比较，难以获得完全一致的灰度，最终的结论只是粗略的、相对的。④定量 PCR 操作复杂：通常要获得比较准确的定量数据，不得不设置较多的不同浓度竞争子的 PCR 反应，不仅增加了操作的复杂性，也增加了操作中各种不确定因素影响结果的机会。⑤实验控制复杂：该方法定量还有一个基础，就是 PCR 反应应终止在 PCR 指数增长期，尽可能避免 PCR 平台期时不同起始拷贝数的标本获得相似的 PCR 产物，进而其灰度无法区分。因此，实验失败和重复的可能性较大。

我们并不能去苛求解决竞争 PCR 的固有缺陷，但随着核酸检测技术的不断发展，利用更先进、更可靠的方法进行核酸定量已成为可能。

20 世纪 90 年代中期，随着各种自动化核酸检测仪投入使用以及物理化学和计算机技术的更多介入，先后出现了多种较为准确的核酸定量技术，使核酸定量检测迈上了一个新的台阶。这些技术中比较典型的有杂交探针技术与水解探针技术，它们有一个共同的特点，即实现了 PCR 过程的实时检测，这种检测方式采用了 PCR 全过程监测，使 PCR 指数增长期范围得到确定，为根据指数增长期产物量直接进行标本起始模板量计算奠定了基础。基于实时检测的定量技术与前面提到的竞争 PCR 完全不同，PCR 体系中无任何竞争因素，不影响 PCR 扩增的效率。利用 PCR 进入指数增长期的快慢与其起始模板量之间的严格函数关系，以外标准品所建立的标准曲线为尺码，针对待检标本的直接定量，是目前最为精确的核酸定量技术之一。

这类技术的另一个突出的优点在于利用了荧光检测的方法，采用荧光能量共振转移等技术，使 PCR 反应体系中的可检测荧光值与 PCR 产物量同相改变，即检测到的荧光值代表了 PCR 产物量，实现了 PCR 过程的闭管检测，最大限度地避免了实验室污染。

全自动化的核酸检测仪和成套商品化检测试剂的应用，简化了临床实验的步骤，规范了实验程序，减少了实验过程中人为因素所造成的误差，使检测结果更为稳定可靠。与临床其他实验诊断项目一样，全自动化检测是其发展的方向。因此，自动化荧光检测仪的出现不仅为上述技术提供了一种很好的硬件平台，而且规范了实验操作，有利于实验室的检测质量控制。下面分别介绍几种目前临床上已有应用的荧光检测技术。

（一）Taqman 技术

Taqman 技术是目前应用最广泛的荧光核酸定量技术。它利用了 Taq DNA 聚合酶的 5′→3′的核酸外切酶活性，将 PCR 技术与核酸杂交检测技术结合在一起，同时具备了 PCR 检测的高灵敏度和核酸杂交的高特异性，是一种极有前途的核酸定量检测技术。

1. Taqman 技术的基本原理

在 PCR 反应体系中除特异性引物外，还有一条与扩增靶序列完全互补的水解探针，其 5′端标记一个荧光素，靠近 3′端标记一个荧光淬灭基团。由于荧光素与荧光淬灭基团空间距离较近，当外界一个激发光激发荧光素发出一定波长的荧光后，该荧光被荧光淬灭基团所吸收而无法被有效检测，而一旦探针被水解，荧光素与荧光淬灭基团空间距离加大，后者无法有效吸收被激发的荧光，这时荧光信号可被检测仪检测。

PCR 反应过程中，在复性阶段，当温度降低时，探针和引物均会结合到模板 DNA 上。随着引物延伸到探针处，Taq 聚合酶发挥 5′→3′的核酸外切酶活性，将探针逐一水解，同时继续新链延伸。这时游离的荧光素发射光能被有效检测（如图 13－6 所示）。

随着 PCR 反应的进行，靶序列不断增加，每个循环结束时被水解的探针也随之增加，被检测到的荧光值不断增强，同时荧光信号的强度和 DNA 的产量成正比。通过每个循环末期实时检测标准品和样品的荧光值，能准确地得到 PCR 反应全过程曲线（如图 13－7 所示）。

在获得各个标本的 PCR 扩增曲线后，计算机软件自动确定用于定量分析的扩增时间点 Ct，利用该点循环数与标本起始模板量的函数关系，首先根据外标准品的数据绘制作出标准曲线。标准曲线以 Ct 所代表的循环数为纵坐标，以标本中起始拷贝数的对数值为横坐标，由于外标准品的起始浓度已知，其 Ct 点根据 PCR 扩增曲线由计算机自动识别。因此，三个以上的外标准品可以作出一条回归系数达到 1.0 的标准曲线，在得到一条可靠的标准曲线

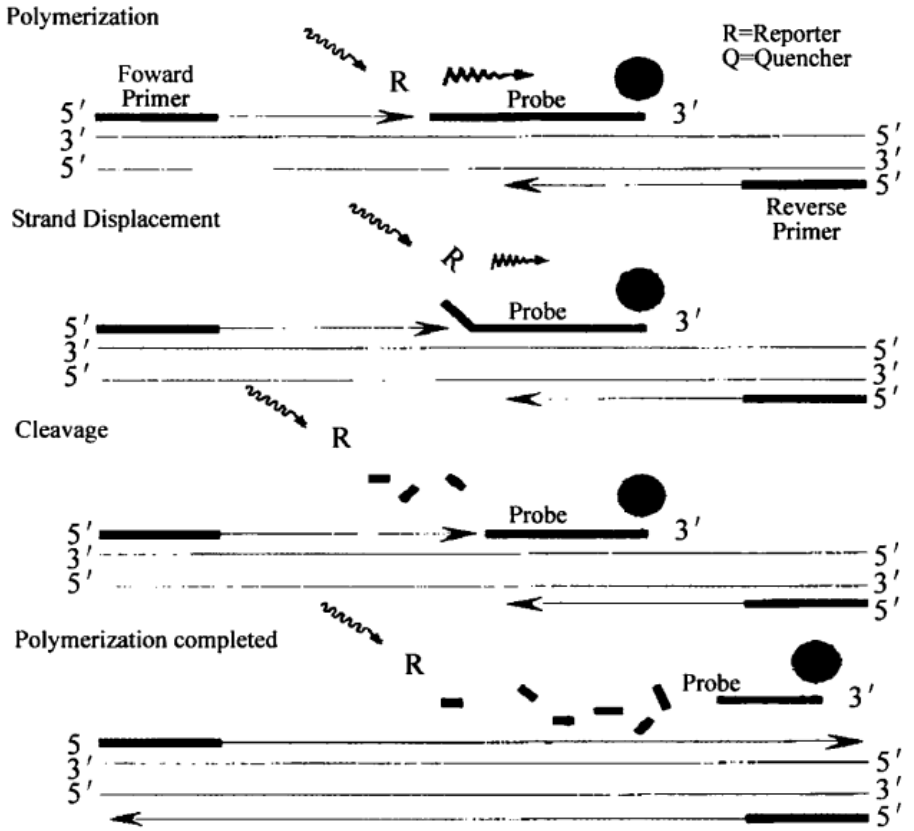


图 13－6 Taqman 技术原理图

（如图 13－8 所示）后，计算机会自动根据待检标本的扩增曲线所确定的 Ct 点循环数计算出其模板的起始拷贝数。另外，将热循环仪与荧光检测仪联合使用，可利用 Taqman 技术进行定性核酸检测。

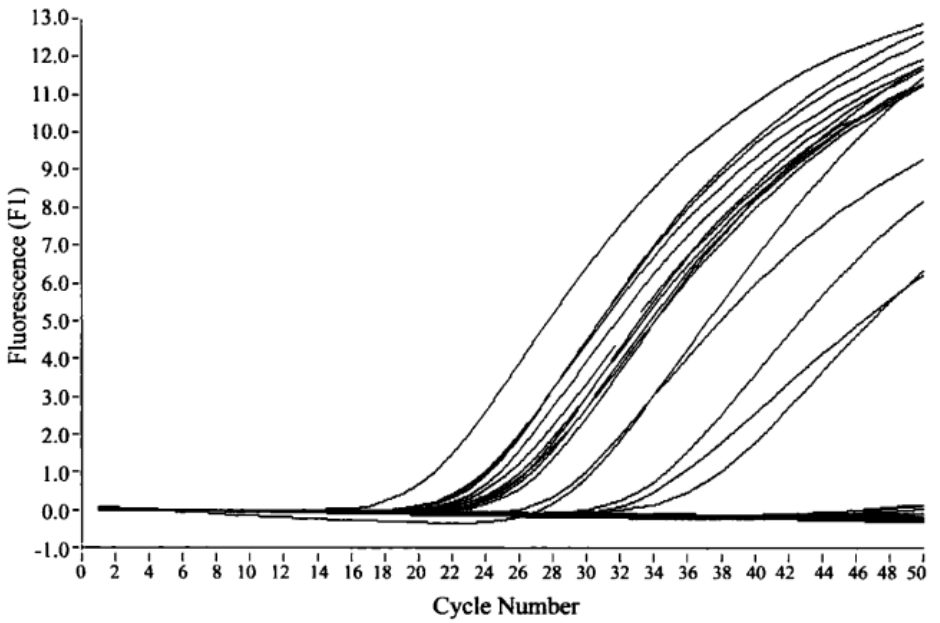


图 13－7 实时荧光定量 PCR 曲线

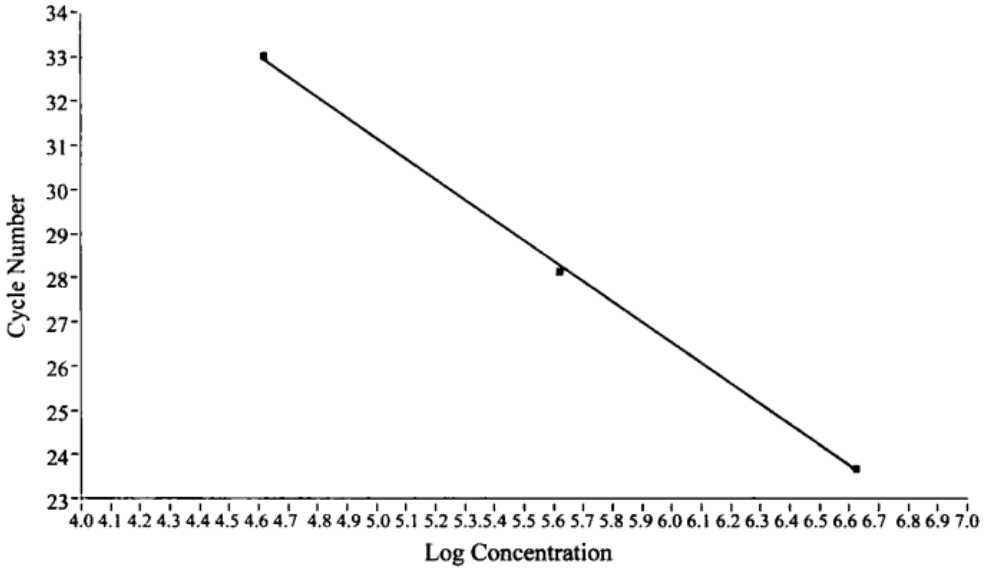


图 13－8　实时荧光定量 PCR 标准曲线

2. 材料

所需仪器为全自动热循环－荧光检测一体机或热循环仪与荧光检测仪，Taqman 探针，PCR 试剂。

3. 操作步骤

①各种方法提取标本中 DNA。

②吸取一定体积模板 DNA 标本用于 PCR 扩增。

③实验数据分析。全自动热循环－荧光检测一体机步骤是：设置荧光分析本底；读取各个标本 PCR 扩增 Ct 值；判断标准曲线回归系数是否接近 1；读取各标本起始拷贝数。热循环仪与荧光检测仪步骤是：从热循环仪中取出反应管放入荧光检测仪；读取各个标本荧光值；与阴性对照比较，确定其阴阳性。

Taqman 反应体系组成见表 13－9，Taqman 反应条件见表 13－10。

表 13－9　Taqman 反应体系组成

PCR 组分	终浓度
10×Taqman 缓冲液	1×
$MgCl_2$	2 mM～9 mM
脱氧核苷三磷酸（dUTP）	dUTP 400 μM，其他 200 μM/每种
AmpliTaq Gold	0.025 u/μL
AmpErase	0.01 u/μL
寡核苷酸引物	0.3 μM～1 μM，通常 0.5 μM/每条
Taqman 探针	50 nM～250 nM
模板 DNA	(0.1 μg～1 μg)/25 μL
其他成分与去离子水	补足 25 μL 体积

表 13－10 Taqman 反应条件

步骤		温度	持续时间
预变性	25～35 个循环	92 ℃～95 ℃	5 min～10 min
变性		92 ℃～95 ℃	30 s～45 s
复性		55 ℃～65 ℃	30 s～45 s
延伸		72 ℃	45 s～90 s
充分延伸		72 ℃	5 min

（二）分子信标技术（Molecular Beacons）

分子信标技术也是荧光探针杂交技术之一，主要应用于核酸定量检测。其基本原理与上述定量方法不尽相同。在 PCR 反应体系中除引物外，加入了一条杂交探针，其结构包括一个核心杂交区域，碱基序列与检测的靶序列完全互补；另外在核心区域的两侧各有互补的数个碱基，这样在常温下，探针两端互补的碱基相互配对形成一个“发夹”结构。在探针的 5′端和 3′端分别标记荧光素和荧光淬灭基团，当探针呈“发夹”结构时，由于 5′端和 3′端连续多个碱基完全互补，使两个标记物的空间距离很近，当用激发光刺激时，5′端荧光素的发射光被 3′端淬灭基团所吸收而无法检测到。在 PCR 变性过程中，探针的“发夹”结构在高温下解链，复性时探针核心部分直接与靶序列结合，从而使部分探针荧光素与淬灭基团分离，这时荧光素的发射光可以被有效检测（如图 13－9 所示）。

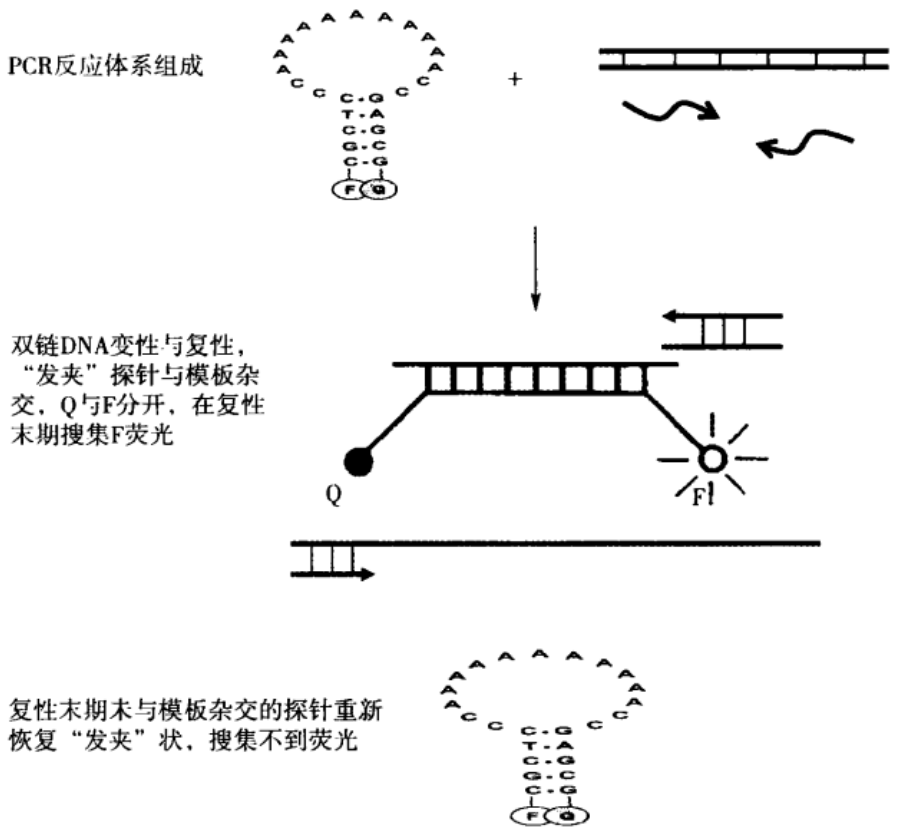


图 13－9 分子信标技术定量 PCR 原理

该方法定量的基础在于探针与靶序列的结合量直接与靶序列的数量相关，而探针的结合量直接决定了供检测的荧光值，因此将荧光值与靶序列数量直接联系在一起。通过实时检测标准品和样品的荧光曲线，能准确地计算样品的靶序列浓度。

（三）SYBR Green Ⅰ荧光染料模式

各种探针技术结合全自动热循环荧光检测仪在核酸定量检测中的应用，不仅使核酸定量工作的质量大大向前迈进了一步，而且给核酸定量技术的不断发展指明了方向。SYBR Green Ⅰ荧光染料模式结合熔点曲线分析是核酸定量荧光实时检测技术中的又一个成员，但它相对于探针技术有着不同的定量原理和应用范围。

1. 基本原理

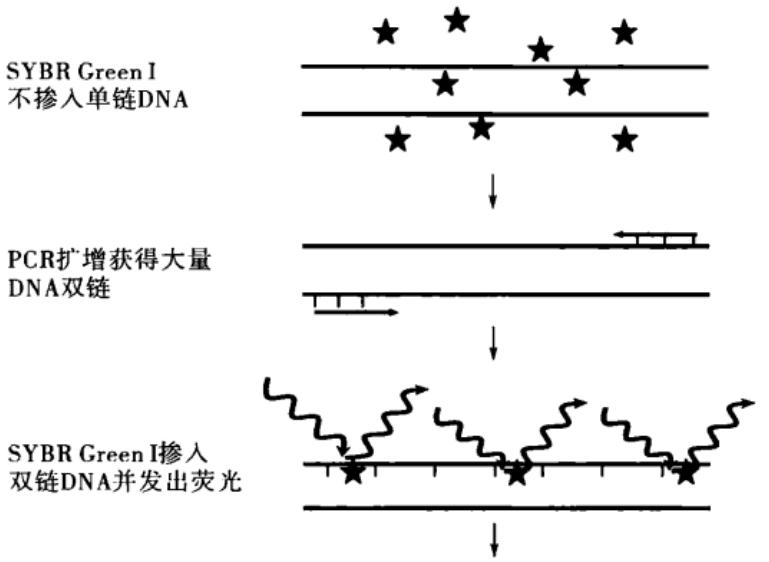
SYBR Green Ⅰ是一种无毒无害的荧光染料，与溴化乙啶一样，它能特异性嵌入双链DNA，在受到外来激发光刺激时，产生强烈的可检测荧光，双链DNA浓度越高，检测到的荧光值越大。

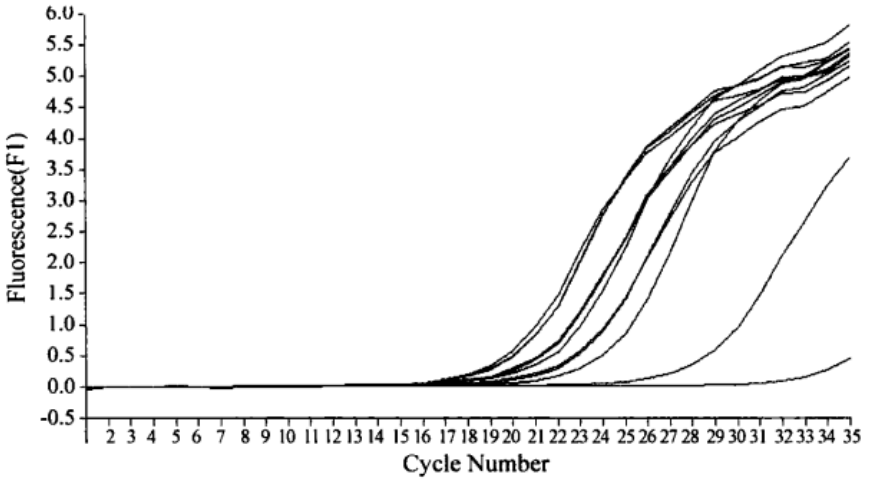
在PCR过程中，SYBR Green Ⅰ与其他试剂一样在扩增前以极低浓度加入反应体系中，在反应体系中有模板DNA存在情况下，在每一个PCR循环的延伸末期定时搜集荧光信号。由于靶基因得到越来越多的扩增，因此SYBR Green Ⅰ荧光信号也随着循环的进行越来越强，并最终将每个循环所检测到的荧光值连接起来得到一条实时的PCR扩增曲线。

在获得该曲线后，并不能直接进行定量分析，而必须先进行熔点曲线分析以判断扩增中搜集到的荧光信号的特异性高低。我们不难看出，SYBR Green Ⅰ模式进行核酸定量检测的最大优点是方便快速，一方面避免了探针技术中对探针设计合成的严格要求与较高的检测成本，另一方面同样实现了完全的无害闭管操作，避免了对操作人员的危害和实验室的污染。然而该技术有一个最大的缺点是荧光信号的特异性得不到保证，与探针技术只搜集特异性荧光信号不同，SYBR Green Ⅰ模式检测搜集到的荧光信号不仅包含了靶基因扩增片段中嵌入的荧光染料信号，还包括了反应体系中诸多非特异扩增双链与引物聚合体与荧光染料结合所发出的荧光，因此如何判断荧光信号中特异性部分的高低是进行定量检测的关键。熔点曲线分析前面已有所介绍，是在PCR结束后，进行一次0.1 ℃/s的逐渐缓慢的升温过程，并进行连续的荧光搜集，这样可获得DNA变性过程中双链DNA逐渐减少，荧光值不断下降的熔点曲线，通过计算机拟合可以计算出某一温度范围内荧光变化值，进而获得某一片段的Tm曲线。由于反应体系中不同双链片段碱基组成和长度的差异，其Tm值也会出现较大差异，这样可以通过熔点曲线分析区别出一个反应体系中特异性荧光信号的强弱，进而判断能否进行准确的定量分析（如图13－10所示）。

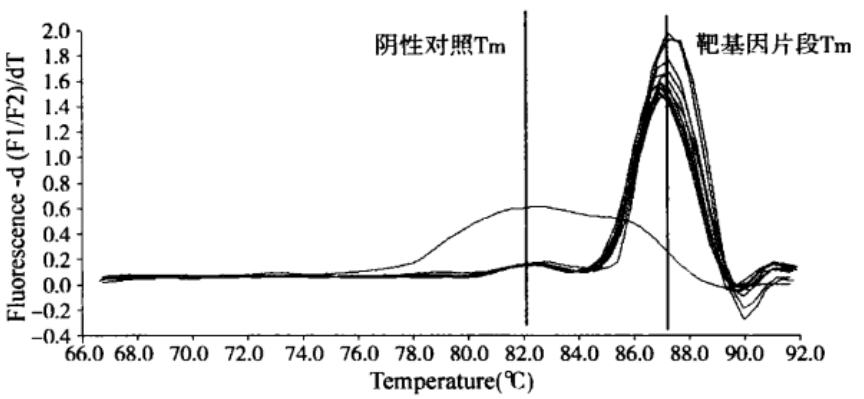
因此，我们可以认为在利用SYBR Green Ⅰ模式进行核酸定量时，其最大的前提条件是获得一个最优的PCR反应体系和PCR反应条件，以避免过多的非特异扩增发生与引物聚合体的形成。另外，在实验设计中尽量扩增较大的片段以使靶片段的Tm值处于较高的水平，同时有利于区分开靶片段与其他非特异片段的熔点曲线峰值，这样在实时检测搜集荧光信号时，可以适当提高荧光搜集时的温度，如从以前的72 ℃搜集荧光提高到85 ℃搜集荧光，以尽量避开非特异的荧光信号，而保留特异性信号。

以上提到了SYBR Green Ⅰ模式进行核酸定量检测中的问题和可能的解决办法，需要大家从应用中去理解和掌握。在进行熔点曲线分析判断已获得较为特异的PCR实时检测曲线后，定量步骤与其他自动荧光检测分析程序一样，通过循环Ct值的确定和外标准曲线的建立，计算出各个标本起始的模板拷贝数。





随着 PCR 产物增加，SYBR Green I 荧光值不断提高



熔点曲线分析以保证获得特异性荧光值用于定量分析

图 13－10　SYBR Green I 模式定量检测原理图

2. 临床应用

SYBR Green I模式具有简便快速等显著优点，其基本操作与常规PCR差别不大，反应体系中加入极低浓度的SYBR Green I荧光染料（如1/10 000），对PCR扩增影响不大，因此是一种各实验室可以自行设计的实验。但我们一定要注意PCR反应的特异性问题，尽管可以采取一些措施来提高特异性荧光的搜集，但非特异信号始终部分重叠在荧光信号中，因此其定量检测的准确性与探针技术比较仍有一定的差距。但SYBR Green I模式结合熔点曲线分析进行核酸定性检测是绰绰有余的。

目前SYBR Green I模式在医学上未用于病原体定量检测，而在特异性基因与基因表达产物鉴定与定量上却有应用。

第四节　基因芯片技术

基因芯片是利用点样技术、现代探针固相原位合成技术、照相平版印刷技术等微电子技术在有限的空间内，有序地集成一系列的可寻址识别的基因片段，用于高通量、高速度、低成本的一种分子生物学工具。根据基因芯片在使用过程中的杂交效率的不同，有固相基因芯片和液相基因芯片之分。

一、固相基因芯片

固相基因芯片技术是20世纪90年代出现并发展起来的，综合了分子生物学、信息科学、材料科学、计算机技术等多种科学技术而形成的核酸固相杂交检测技术。基因芯片（Gene chip）又称DNA芯片（DNA chip）或DNA微阵列（DNA microarray），为生物芯片（Biological chip）的一种。基因芯片是指将大量DNA探针分子固定于固体支持物（substrate）上，然后与荧光素标记的样品核酸进行杂交，通过检测杂交信号的位置及强弱，进而判断样品中靶分子的性质与数量，从而获得样品的序列信息。由于用该技术可以将大量的、序列不同的针探分别固定在同一个固体支持物上，并排成易于分辨的阵列，所以可同时对样品中复杂的DNA分子或RNA分子的序列信息进行检测分析，其效率比传统核酸印迹杂交（Southern Blotting和Northern Blotting等）大幅度提高。该技术实现了在微芯片固相载体上对大量目的DNA/RNA的特异杂交检测，具有高通量、多样化、微量化、集成化、自动化等显著优点，在医学领域具有十分广泛的应用前景。

20世纪80年代初，科学家提出了固相核酸杂交的设想，其后，俄罗斯、美国及英国的科学家分别报道了用杂交测定核酸序列的方法。1991年，Affymetrix公司的Fodor等建立了原位光刻合成技术，为寡核苷酸在片原位合成制作高密度基因芯片奠定了基础，同时也标志着核酸检测技术已发展到了一个新的阶段。1994年，俄罗斯、美国科学家共同研制了用于β－地中海贫血基因突变筛查的基因芯片，并用于β－地中海贫血已知突变检测，由于测序的速度比传统方法提高了近1 000倍，被认为是一种全新的快速测序方法。鉴于基因芯片潜在的巨大商业价值，90年代中期开始，更多的商业公司如Motorola、Packard等也加入了芯片开发的行列。1996年底，Affymetrix公司推出可应用的基因芯片和较完整的芯片制造、杂交、扫描及数据分析系统。其他如General Scanning Inc、Telechem、Cartesian等公

司亦相继研制出芯片用激光共聚焦扫描仪及分析软件。在我国，较早从事基因芯片研究的机构有军事医学科学院、清华大学、复旦大学、东南大学等科研机构以及西安超群、南京益来等公司。

目前基因表达芯片的制作及使用已经基本成熟，芯片技术在基础研究，尤其是在基因表达方面已得到成功应用，而在医学应用方面也已开发出如 HIV、肿瘤及少数遗传病基因诊断相关芯片等。基因芯片在基础研究及医学方面已得以应用。以 Affymetrix 公司为例，年产各类寡聚核苷酸基因芯片几十万张，生产的基因芯片包括表达谱芯片（如人、大鼠、小鼠、果蝇、拟南芥、酵母和大肠杆菌等多个物种）、外显子检测芯片、叠片式芯片（Tiling array 和 promoter array）、SNP 芯片等。但由于芯片和检测系统价格昂贵，再加上专利及许多技术问题还有待解决，因此目前尚未大规模应用于临床检验。

根据不同的分类标准，基因芯片可分为以下主要类型。

根据基因芯片上 DNA 点阵密度不同，可将其分为低密度芯片（每平方厘米 1～1 000 点）、中密度芯片（每平方厘米1 000～10 000点）和高密度芯片（每平方厘米超过10 000点）三大类。

根据点阵的产生方式，可分为点样芯片和原位合成芯片。

根据芯片的功能，可分为基因表达谱芯片和 DNA 测序芯片两类。基因表达谱芯片可以将克隆到的成千上万个基因特异的探针或其 cDNA 片段固定在一块 DNA 芯片上，对来源于不同的个体（正常人与患者）、组织、细胞周期、发育阶段、分化阶段、病变、刺激（包括不同诱导、不同治疗手段）下的细胞内 mRNA 或反转录后产生的 cDNA 进行检测，从而对这些基因表达的个体特异性、组织特异性、发育阶段特异性、分化阶段特异性、病变特异性、刺激特异性进行综合的分析和判断，迅速将某个或几个基因与疾病联系起来，极大地加快这些基因功能的确定，同时可进一步研究基因与基因间相互作用的关系。DNA 测序芯片则是基于杂交测序发展起来的。其原理是任何线状的单链 DNA 或 RNA 序列均可分解成系列碱基数固定、错落而重叠的寡核苷酸，又称亚序列（subsequence）。假如我们能把原序列所有这些错落重叠的亚序列全部检测出来，就可据此重新组建出原序列。

另外，也可根据所用探针的类型不同分为 cDNA 微阵列（或 cDNA 微阵列芯片）和寡核苷酸阵列（或芯片），根据应用领域不同而制备一些专用芯片，如毒理学芯片（Toxchip）、病毒检测芯片（如肝炎病毒检测芯片）、P53 基因检测芯片、表达谱芯片、诊断芯片、指纹图谱芯片、测序芯片等。

1. 基因芯片的制作

基因芯片技术主要包括四个主要步骤，即芯片制备、样品制备、杂交反应、信号检测和结果分析。

基因芯片主要由载体材料和其上的寡核苷酸探针或 cDNA 探针组成。其中，制作芯片的固相支持材料可以是硅片、玻璃片、金属片、有机高分子薄膜等。由于玻片来源方便，表面经硅烷处理后可与各种生物分子偶联，既可用透射光或反射光检读，又可用光刻法在玻璃上刻出微流路，还可以利用微量分子泵在载体上完成生物分子的连接、杂交、清洗及检测等，所以玻璃材料的应用较为广泛。固定于片基上的靶基因探针可以是寡核苷酸探针，也可以是克隆化的基因。靶基因选择染色体 DNA（或基因组 DNA），也可选择 cDNA（或人工合成 DNA）。目前，以 cDNA 的研究为主，因为 cDNA 是染色体上编码蛋白质的 DNA 序列，具有医疗和其他领域的研究价值和商业价值。

成都蜀通印务有限责任公司
合格证
检验号 19
质检部电话 (028)84122206
若有质量问题,请与质检部联系调换

基因芯片的制备综合了[illegible]、统计学等领域的前沿技术，主要包括芯片的制备[illegible]定）、杂交探针的制备（mRNA 的抽提、mRNA [illegible]条件的优化技术（杂交液、杂交条件和洗涤条件[illegible]的制备主要依赖于微细加工（microfabrication）、[illegible]制备过程就是将特定的一组寡核苷酸片段或 cDN[illegible]片的制备除了用到微加工工艺外，还需要使用机器人技术，以及能[illegible]量到芯片上的指定位置。

生物样品往往是复杂的生物分子混合体，除少数特殊样品外，一般不能直接与芯片反应，有时样品的量很小。所以，在进行样品制备时，必须将样品进行提取、扩增，获取其中的 DNA 或 RNA，然后用荧光标记，以提高检测的灵敏度和使用者的安全性。

杂交反应是荧光标记的样品与芯片上的探针进行反应产生一系列信息的过程。选择合适的反应条件能使生物分子间反应处于最佳状况中，减少生物分子之间的错配率。错配的发生与探针本身也有一定的关系，优化探针、减少错配和非特异性问题是提高基因芯片精度的重要方面，也是芯片技术研究的热点之一。标准探针集注释以基因为中心，即将探针集与特定基因关联起来。但由于可变剪接的存在，所以将以基因为中心的注释进一步细化为转录本的注释文件是有必要的。

信号检测和结果分析是指杂交反应后的芯片上各个反应点的荧光位置、荧光强弱经过芯片扫描仪和相关软件可以分析图像，将荧光转换成数据，获得有关生物信息。为了获得更加准确的信息，各相关公司及研究单位不断改进和优化信息处理系统。以 Beadlab 平台为例，它是 Illumina 公司整合 GoldenGate 多通道位点特异性延伸扩增检测方案和 BeadArray 高密度微阵列技术，开发而成的顶级高通量 SNP 基因分型系统，每天可完成超过 44 万个基因分型。一系列表达谱检测技术在此基础上应运而生。上海南方基因科技有限公司利用引进的 Illumina Beadlab 系统开展了一系列人类基因组学研究和应用开发，出色地完成了国际 HAPMAP 计划 21 号染色体的 SNP 分型工作。

根据点阵的产生方式，基因芯片可分为点样芯片和原位合成芯片。相应地，基因芯片的制作方法可分为寡核苷酸微点样法和原位合成法两大类。

（1）微点样法（microspotting）。

点接触法（mechanical microspotting）：由 Shalon 等建立，将每个样品的寡核苷酸探针预先合成、纯化，然后用自动化微量点样仪器直接点到载体上，其密度可以达到 10 000点/3.6 平方厘米。因基因芯片的探针点阵的点与点的距离非常小，所以选择高性能的点样设备非常重要。

喷墨法（ink jets）：以定滴供给的方式，通过压电晶体或其他推进方式，从喷嘴中把样品喷射到载体上，其密度可达10 000点/平方厘米。

微点样法中探针的固定是一个重要环节。目前固定探针的方法较多，主要通过寡核苷酸和载体之间的共价交联或静电作用吸附。

（2）原位合成法（in situ synthesis）。

光蚀刻法（photolithography）：由 Affymetrix 公司的 Fodor 等建立，是将光刻术与寡核苷酸的合成相结合，得到位置确定、高密度的寡核苷酸序列。这种芯片通常称为 Genechip。该方法可使探针密度达到 106 点/平方厘米，探针间距 20 μm，是目前合成密度最高的方法。Affymetrix 公司利用该方法生产了能同时检测6 500个人类基因的芯片，并正在制备含

5×10^5～10×10^5 个探针的人类基因检测芯片。尽管如此，该芯片制作方法亦有明显缺点：需要大量时间设计、制造昂贵的光掩膜；合成中每步缩合率一般仅为 92%～94%；探针仅 2 mer～8 mer，合成 30 nt 时一般产率仅 20%。1996 年，McGall 等提出了将光控合成技术与光敏抗蚀技术相结合，以酸作为脱保护剂，使产率可达 98%，以解决光衍射造成的脱保护不彻底问题，并将探针密度提高到 1010 的更高密度基因芯片的方法。目前，Affymetrix 可以提供 3 种规格人的 SNP 芯片，分别是 10K、50/100K 和 250/500/1 000K，可一次性分析人的 1 万、10 万、50 万、100 万个 SNP 位点，并告知的是该位点的序列信息。

原位试剂合成法：通过六聚乙二醇及环氧丙基三甲基氧基硅烷在玻璃上产生烷基伯羟基，在 Applied Biosystem381A 合成仪上用标准试剂可在玻璃片上不同区域全自动合成不同探针。

压电打印法（piezoelectric printing）：由美国 Incyte Pharmaceuticals 等公司建立的利用亚磷酰胺试剂而不需要其他特殊化学试剂的寡核苷酸固相合成法，其产率可达 98%，探针长度达 40～50 个碱基。

分子印章法：我国东南大学开发的一种在片压印原位定点 DNA 的合成方法。根据所需的探针阵列制备微印章，然后在印章上逐个涂上单核苷酸，再将涂有不同单核苷酸的印章逐个压印在同一基片上，直到得到所需的序列长度。这是我国独立创建的一种高密度探针原位合成法。

此外，目前还开发了一些较有特色的芯片，它们的制作方法略有区别，例如：

三维芯片（Microarray of Gel-Immobilized compounds on a chip，MAGIchip），这是由美国和俄罗斯合作开发的一种芯片。它在一块载玻片上固定了多达10 000个聚乙烯酰胺凝胶微条，每个微条均可用做生物分子分析。三维化的微凝胶条增加了杂交反应的面积和探针分子数，从而提高了芯片检测的敏感性，并且在芯片上可同时进行扩增与检测。

肽核酸芯片，这是一种将肽核酸（Peptide Nucleic Acid，PNA）作为探针制作的芯片。PNA 是一种以甘氨酸为骨架的核酸衍生物，与核酸结构相似，能够根据碱基互补配对原则识别特定序列的靶核酸，并能与其牢固结合。由于 PNA 不带电荷，与 DNA 结合的特异性和有效性都比同样序列的 DNA 探针优越。

流过式芯片（flow-thru chip），这是美国 Gene Logic 开发的一种微通道芯片。它将寡核苷酸探针结合于微通道内的特定区域，然后让荧光标记后的样品流过该区，以完成探针与模板的杂交。由于增大了探针吸附表面，该芯片检测灵敏度有较大的提高；加之微通道加速了杂交反应，因而反应速度快；由于采用了特殊的共价化学技术将探针吸附于微通道内，使每一种流过式芯片可反复使用多次，从而使其成本降低。清华大学用生物芯片所制作的具有不同用途的全功能缩微芯片实验室（lab-on-chip），可使分析过程全自动化。

近年来，芯片实验室技术逐渐得到广泛的重视，并成为一个重要研究方向。芯片实验室是系统集成和微刻技术发展的结晶，它集样品制备、基因扩增、核酸标记及检测为一体，实现生化分析全过程自动化，所以又称为微全分析系统（miniaturized total analysis system，μTAS）。芯片实验室是生物芯片发展的最高阶段，到目前为止，利用微刻技术，多种微流结构，诸如阀、压力系统、测量系统、反应仓等，已经被整合到芯片实验室中。这一技术在提高分析速度、减少样本和试剂消耗、排除人为干扰、防止污染和实现自动化等方面具有明显优势。

2. 基因芯片的检测方法

（1）分子杂交。

样品核酸需要经过体外扩增和标记才能经与芯片杂交而被检测。目前最常用的是用PCR方法扩增待检测靶核酸同时掺入荧光素分子，如FAM、Cy5、Cy3等，以获得足量的标记待检靶分子。基因芯片的分子杂交原理和普通核酸杂交一样，即单链的标记靶核酸分子根据碱基互补配对的原则，与固定在固体基质上的、与之互补的单链探针结合成双链结构，滞留在杂交位点而被检测，未能与探针结合的核酸分子则被洗掉。由于固定于玻璃片上的DNA探针密度较大，且带有较多的负电荷，因而荧光标记的靶序列需要克服较强的静电斥力才能与芯片上的探针杂交。

另外，由于一般生物样本中所含的待检测模板量较低，直接标记后达不到芯片检测仪器的灵敏度下限，因而往往需对待检样品核酸进行体外扩增。增加样品模板量的方法很多，目前应用最多的是常规PCR法。而其他新方法也在不断出现，并有可能发展为更方便快捷的模板增量方法。如Mosaic Technologies公司发展的固相PCR系统，可避免交叉污染且无须液相处理；Lynx Therapeutics公司提出的大规模并行固相克隆系统（massively parallel solid-phase cloning），可以对样品中数以万计的DNA片段同时进行克隆。由于模板增量时可能造成较大误差，也有研究者正在研究不必经过扩增模板的更敏感的检测方法进行芯片检测。

基因芯片上进行分子杂交条件的选择与研究目的密切有关。在基因表达研究中，可采用较低严格性杂交，如低温度、长时间、高样品浓度及高盐浓度等；突变检测时，则需要提高杂交严谨性，如短时、高温、低盐浓度等；多态性分析时，通常设计出一套四种寡聚核苷酸，只在中央位点碱基有所不同，根据每套探针在某一特点位点的杂交严谨程度，即可测定出该碱基的种类。

（2）扫描阅读。

杂交反应结束后，经过清洗芯片，去除未杂交的标记靶分子及其他杂质后在基因芯片扫描仪上进行芯片的荧光扫读，并把荧光扫描信号转变成可供分析的图像数据，再利用计算机分析和处理这些数据，给出检测结果。同芯片的制作、杂交一样，芯片扫读也直接影响芯片的分析结果。商业化芯片扫描仪主要有两类，即激光共聚焦扫描仪和CCD扫描仪。前者以激光作为激发光源，可以产生较高强度的发射荧光，从而有较高的检测灵敏度，检测极限可达0.1个荧光分子/平方微米；又由于激光经聚焦后产生极小的光斑，因此具有较高的分辨率，最高可达几个微米；扫描时间较长，完成一次扫描一般需时5 min左右，比较适合研究用。CCD芯片扫描仪结构比较简单，其激发光源多采用氙灯或高压汞灯。芯片经激发产生的图像信号由CCD摄像头直接传送到图像卡，变成数字信号，由计算机储存和分析，给出检测结果。其特点是扫描时间短，灵敏度和分辨率稍低，比较适合临床诊断用。荧光检测方法重复性较好，但其缺点是灵敏度偏低。一些更快速、灵敏的检测方法正在被研究中，包括质谱法、化学发光法、光导纤维法、DNA生物传感器法等，均是有希望取代荧光法的手段。

3. 固相基因芯片的应用

目前基因芯片已被广泛应用于生物医学研究领域，如基因表达、测序分析、基因作图、突变检测、多态性分析等研究，特别是在基因表达检测中已有大量成功范例。1995年，Schena等报道利用基因芯片测定了拟南芥、酵母及人黑色素瘤细胞系的基因组表达情况，证实该技术是切实可行的。Affymetrix目前正在开发一种将DNA测序和芯片技术相结合的

新技术，将在捕获了部分基因组的矩阵上配置酶测序反应，这一技术可能为测序技术带来新的突破。然而，在基因芯片的所有应用领域中，它的医学应用潜力最具价值。

（1）基因表达检测。鉴于人类的一些遗传性疾病及肿瘤的相关基因可能因基因环境异常而出现异常表达，因此基因芯片可以用于疾病基因表达异常的检测。另外，在涉及一些多基因遗传常见病的病因筛查中，如糖尿病、高血压、冠心病等，基因芯片技术作为较为理想的了解基因网络关系的技术之一，将扮演重要的角色。

（2）遗传性疾病诊断。遗传病是一大类严重威胁人类健康的疾病，随着越来越多的遗传病发病机制被明确，如何采用快速、简洁、可靠的方法对遗传病进行诊断和预防，已是一个需要急迫解决的问题。许多突变检测技术，如连锁分析、PCR－SSCP、HAD、DGGE、CFLP、DHPLC 等为基因突变检测提供了有效的手段，但这些方法在突变筛查中均存在筛查范围局限、突变位置不确定、操作比较复杂等问题。基因芯片则为解决上述问题提供了一种选择。目前，基因芯片已成功地应用于囊性纤维化基因、p53 基因、珠蛋白基因、酪氨酸酶基因、HIV－1 蛋白酶基因、地中海贫血等多种基因突变的检测。

（3）肿瘤相关基因诊断。肿瘤是严重威胁人类生命的疾病之一，肿瘤的发生发展往往涉及多个基因的异常，对相关基因进行检测可以作为肿瘤诊断、预后的重要指标。目前抑癌基因 p53 的基因芯片检测技术已趋成熟，其商业化试剂将对多种肿瘤的诊断和分期起到重要作用。另外，Hacia J G 等利用基因芯片对 BRCA1 基因突变进行筛查，获得理想结果，展示了基因芯片技术在肿瘤基因诊断中较好的应用前景。所有这些工作都提示基因芯片技术极有可能成为肿瘤基因大规模突变筛查的常规技术。

（4）感染性疾病病原体检测。随着人类和病原微生物基因组研究的深入，越来越多的碱基序列被确定，为病原体检测采用核酸技术提供了丰富的材料。美国最近修订的性病诊断标准已将核酸指标列为确诊依据之一。核酸诊断将是继免疫法之后的重要诊断手段之一，是该领域的发展方向。基因芯片技术作为核酸研究领域的一个重要技术，在提高病原体检测的可靠性、大规模筛查等方面将大有用武之地。另外，利用基因芯片监测筛选病原体的耐药性将是芯片的另一应用领域。如 Telenti 等报告的结核杆菌 RNA 聚合酶 rpoB 基因与利福平抗性有关，Head 等应用中密度基因芯片通过对 rpoB 基因序列扫描，对抗药性 TB 菌株进行了准确、快速的鉴定，这些工作为基因芯片在病原体耐药性筛查中的应用奠定了基础。利用基因芯片的优势对较多病原体及病原体大量基因同时进行检测为感染性疾病的诊断与治疗带来了新的前景。

（5）预防医学。芯片高通量、并行性的基因检测特点，使大规模的微生物筛查更为方便、准确，为卫生防疫、检疫等提供了一种有效的技术手段，在预防医学中有广阔的应用前景。

二、液相基因芯片

液相基因芯片是后基因组时代发展起来的技术平台。液态芯片，又称悬浮阵列、流式荧光技术，是基于美国 Luminex 公司研制的多功能流式点阵仪开发的多功能生物芯片平台，它有机地整合了编码微球（color-coded beads）、激光技术、应用流体学、高速数字信号处理器和计算机运算法则，检测特异性和灵敏度高，可广泛应用于免疫分析、核酸研究、酶学分析、受体和配体识别分析等研究。该平台通过红、绿两束激光分别检测微球编码和报告荧光来达到定性和定量的目的，一个反应孔内可以完成多达 100 种不同的生物学反应，是继基

因芯片、蛋白芯片之后的新一代高通量分子检测技术平台。该技术已成为一种新的蛋白质组学和基因组学研究工具，也是最早通过美国食品与药物管理局（FDA）认证的可用于临床诊断的生物芯片技术。

1. 液相芯片技术的原理

液相芯片体系由许多大小均一的圆形微球（直径 5.5 μm～5.6 μm）为主要基质构成，每种微球上固定有不同的探针分子，将这些微球悬浮于一个液相体系中，就构成了一个液相芯片系统。利用这个系统可以对同一个样品中的多种不同分子同时进行检测，这种被称之为 xMAP 的检测技术是 1997 年由美国 Luminex 公司开发出来的。

在液相系统中，为了区分不同的探针，每一种固定有探针的微球都有一个独特的色彩编号，或称荧光编码。在微球制造过程中掺入了红色和橙色两种荧光染料（这两种染料各有 10 种不同区分），从而把微球分为 100 种不同的颜色，形成一个具有独特光谱地址的含有 100 种不同微球的阵列。不同颜色微球在分类激光激发下产生的荧光互不相同，这种分类荧光是识别不同微球的唯一途径。利用这 100 种微球，可以分别标记上 100 种不同的探针分子。

检测时先后加入样品和报告分子与标记微球反应，样品中的目的分子（待检测的抗原或抗体、生物素标记的靶核酸片段、酶等）能够与探针和报告分子特异性结合，使交联探针的微球携带上报告分子藻红蛋白，随后利用仪器（如 Luminex 100）对微球进行检测和结果分析。Luminex 100 采用微流技术使微球快速单列通过检测通道，并使用红色和绿色两种激光分别对单个微球上的分类荧光和报告分子上的报告荧光进行检测。红色激光可将微球分类，从而鉴定各个不同的反应类型（即定性）；绿色激光可确定微球上结合的报告荧光分子的数量，从而确定微球上结合的目的分子的数量（即定量）。因此，通过红绿双色激光的同时检测，完成对反应的实时、定性和定量分析。

2. 液相芯片技术的优点

液相芯片技术最突出的优点在于：仅需少量样本即可同时定性、定量检测同一样本中的多种不同目的分子，即多重检测（multiplexing）。具体来说，与常规免疫学或核酸检测方法相比，液相芯片技术具有以下显著优点。

（1）高通量。

可对同一样本中的多种不同目的分子同时进行实时、定性、定量分析。从理论上说，如果不存在交叉反应，检测的通量等于微球的种类数，目前最多可达到 100 种。这远胜过一次只能检测一个项目的传统免疫分析法。

（2）样本用量少。

由于在同一个反应孔中可以同时完成 100 种不同的生物学反应，所以大大节省了样本用量，少至 1 μL 的样本都可检测，非常适合分析小体积稀有样品。

（3）操作简单、快速。

由于是基于液相反应动力学，因此反应速度快，孵育时间比传统的固相检测短。进行免疫学分析时，若使用高亲和力抗体，2 h～3 h 内即完成检测，而核酸杂交分析在 PCR 扩增后 1 h 内可得到结果。

（4）灵敏度高。

微球表面积大，每个微球上可以包被100 000个捕获抗体，如此高密度的捕获抗体保证了能够最大限度地与样本中的抗原分子结合，提高检测灵敏度。最低检测浓度可以达

到0.1 pg/mL。

(5) 检测范围广。

可达3~5个数量级（如Bio-Rad公司细胞因子检测试剂盒的检测范围达到0.2 pg/mL~32 000 pg/mL，样品无需浓缩或稀释。

(6) 特异性强。

无需洗涤就能够自行将与微球结合的和未与微球结合的分子区分开来，只读取单个微球上的荧光信号，信噪比好。

(7) 准确性高。

微球上的报告分子荧光强度与结合的待测分子成正比。由于液相芯片技术的检测范围大，因此不需要像ELISA检测中那样将样本多倍稀释，从而减小了误差。

(8) 重复性好。

这是由于：第一，与ELISA依靠酶放大作用的比色读数相比，液相芯片技术中的荧光读数值更加直接、稳定、灵敏；第二，每种微球检测100个，最终取荧光强度的中值作为结果，这相当于对每个样本重复检测了100次，而ELISA仅为双复孔或三复孔，因此液相芯片检测结果的准确性和重复性是ELISA无法比拟的。

(9) 费用低。

同时检测一个样本中的多项指标可节约时间、样本、试剂、耗材和劳动（比ELISA法低10~100倍），降低检测成本，同时还提高了分析效率，仅需少量样本即可获得大量信息。目前同时检测10项细胞因子的液相芯片试剂的费用大约为1 300美元/96孔（130美元/项/96孔），这比检测单项指标的ELISA试剂的成本（500美元/项/96孔）低得多，而且还可随检测指标的增加而进一步降低费用。

(10) 灵活。

适用于各种蛋白质和核酸的分析。商品化试剂盒的使用者只需增减探针交联微球和标记分子，即可满足不同检测项目的需要。

3. 液相芯片技术的应用进展

液相芯片是继平面芯片之后的一种新型芯片技术，是一种非常灵活的多元分析平台，在核酸、蛋白质等生物大分子的大规模分析中具有巨大的应用潜力，可用于免疫分析、核酸研究、酶学分析、受体-配体识别分析等众多领域的研究，蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质-核酸相互作用分析等都可以在同一个平台上实现。鉴于液相芯片技术具有在高通量定性和定量检测上令人瞩目的优势，目前它在基因组学研究、蛋白质组学研究、药物开发、基础研究和临床诊断等方面的应用十分广泛，近几年来以此为平台的产品开发和应用十分活跃，研究者既可以根据研究需要自行制备探针交联微球，建立反应体系，也可使用种类繁多的商品化试剂盒进行分析。大体来说，液相芯片技术的应用包括两大部分，即液相蛋白芯片和液相基因芯片，前者主要是基于抗原抗体反应，而后者实质为核酸杂交。现举液相基因芯片的应用两例。

(1) 检测SNP。

单核苷酸多态性（Single Nucleotide Polymorphism，SNP）是指在基因组水平上由于单个核苷酸改变所引起的DNA序列多态性。它是人类可遗传的变异中最常见的一种，占所有已知遗传多态性的90%以上。SNP在人类基因组中广泛存在，平均每500~1 000个碱基对中就有1个，估计其总数可达300万个甚至更多。随着人类基因组计划的完成，基因组多态

性研究，尤其是 SNP 检测，已经成为一个重要的研究热点。

利用液相芯片技术进行 SNP 分析的研究报道已有很多，在此平台上可应用多种不同的 SNP 基因型分析方法，如单碱基链延伸法（Single Base Chain Extension，SBCE）、等位基因特异性引物延伸法（Allele-Specific Primer Extension，ASPE）、寡核苷酸连接法、直接杂交法、竞争杂交法等。

采用液相芯片技术进行 SNP 分析，96 孔板上每孔可检测 50 种 SNP，仪器分析 96 个孔的数据只需 1 h，这样每台仪器每天（8 h）可完成30 000个以上基因型的检测，每个 SNP 的平均检测费用据估算不到 0.20 美元（不包含 PCR 费用），并且主要取决于检测 SNP 的数目、联检项目数量、标本数量、人力和试剂费用等因素。因此，用液相芯片进行 SNP 分析比 DNA 测序或者基因芯片操作简便、快速、高效、准确、重复性好、通量高、费用低，而且单管反应即可检测多种 SNP，在研究 SNP 与疾病（心血管疾病、肥胖、肿瘤等）发生、法医鉴定等方面具有显著的优势和广阔的应用前景。

目前也已推出用于 SNP 检测的液相芯片试剂盒，如 Tm Bioscience 公司有用于临床同时检测因子 V Leiden 突变（G1691A）、凝血酶原（G 20 210 A）、MTHFR C677T 和 MTHFR A1 298 C 突变和检测导致囊性纤维化的 CFTR 基因突变的遗传性疾病检测试剂盒（囊性纤维化检测试剂盒是被 FDA 批准的首个人类疾病多重基因分型体外诊断试剂盒），很适合用于高通量临床基因分型。Marligen Biosciences 公司的 YSNP 鉴定系统和线粒体 DNA 筛选系统可分别检测人 Y 染色体上的 96 种 SNP 和人线粒体 DNA 超变区的 30 种 SNP。

（2）液相芯片技术在 Y 染色体微缺失检测中的应用。

影响男性不育的因素有很多，近年来的研究表明，Y 染色体上存在着精子发生调控基因，即无精子症因子（azoospermia factor，AZF），其缺失引起的生精障碍是导致男性不育的重要原因，表现为原发性无精子症（azoospermia）或少精子症（oligospermia）。随着对 Y 染色体微缺失研究的深入和细致，需要检测的位点和基因越来越多，建立一套高效率的 Y 染色体微缺失多重 PCR 筛查系统，可以避免过多的重复实验，适应临床和科研需要。目前大多数实验室采用的多重 PCR－电泳检测方法在技术上仍存在易发生实验室污染而使结果的可靠性降低的缺点；结果判断时往往发现有些条带模糊，因此易出现一些假阳性和假阴性结果。本实验室建立的多重 PCR－液态基因芯片技术，用于检测原发性无精症和少精症患者 Y 染色体 AZF 区域微缺失。并应用所建立的液态基因芯片方法对原发性无精症和少精症患者及正常生育男性进行 Y 染色体微缺失的分子检测，验证所建立的方法的可行性，确定无精症和少精症患者的缺失率，探讨 Y 染色体上部分生精基因的缺失与原发性无精症和少精症的关系及其分布规律。

选取 Y 染色体长臂上的无精症因子 AZFa（sY84）、AZFb（sY127、sY134）、AZFc（sY254、sY255）三区共 5 个 STS 位点，并以男性特有的性别决定基因（sex determining region Y，SRY）的基因序列和 12 号染色体上的 3－磷酸甘油醛脱氢酶基因（GAPDH）的基因序列作为内对照。正常男性、女性 DNA 分别为阳性对照、阴性对照。利用 PRIMER 5.0 软件分别设计出 7 对引物扩增序列及检测 PCR 扩增产物的 7 条探针，建立多重 PCR 反应体系、杂交反应体系，对影响杂交反应的因素作了分析。并用该技术对 178 例无精症、134 例少精症患者和 40 例正常男性对照进行 Y 染色体微缺失检测。

运用液态基因芯片技术检测 Y 染色体微缺失，具有高通量、灵敏度高、特异性强、重复性好、快速简便、自动化等优点，与多重 PCR 相结合使对无精症和少精症的诊断更加准

确、可靠。

Y染色体微缺失与原发性无精症、少精症有关。在原发性无精症、少精症患者中，Y染色体上AZF微缺失总发生率约为12.8%（40/312），其中无精症患者的发生率是14%，少精症患者的发生率是11.2%。

思考题

1. 常见的细胞遗传学技术有哪些？
2. 常见的核酸杂交技术有哪些？
3. 简述核酸提取的方法及注意事项。
4. 简述PCR技术的原理及过程。
5. 简述荧光定量PCR的原理。
6. 什么叫基因芯片？基因芯片在医学上有哪些应用？

（丁显平　魏　霞　宋文奇）

附录　人类遗传与优生的相关法律、法规及管理办法

一、中华人民共和国母婴保健法

（1994 年 10 月 27 日第八届全国人民代表大会常务委员会第十次会议通过，1994 年 10 月 27 日中华人民共和国主席令第 33 号发布，自 1995 年 6 月 1 日起施行）

第一章　总则

第一条　为了保障母亲和婴儿健康，提高出生人口素质，根据宪法，制定本法。

第二条　国家发展母婴保健事业，提供必要条件和物质帮助，使母亲和婴儿获得医疗保健服务。

国家对边远贫困地区的母婴保健事业给予扶持。

第三条　各级人民政府领导母婴保健工作。

母婴保健事业应当纳入国民经济和社会发展计划。

第四条　国务院卫生行政部门主管全国母婴保健工作，根据不同地区情况提出分级分类指导原则，并对全国母婴保健工作实施监督管理。

国务院其他有关部门在各自职责范围内，配合卫生行政部门做好母婴保健工作。

第五条　国家鼓励、支持母婴保健领域的教育和科学研究，推广先进、实用的母婴保健技术，普及母婴保健科学知识。

第六条　对在母婴保健工作中做出显著成绩和在母婴保健科学研究中取得显著成果的组织和个人，应当给予奖励。

第二章　婚前保健

第七条　医疗保健机构应当为公民提供婚前保健服务。

婚前保健服务包括下列内容：

（一）婚前卫生指导：关于性卫生知识、生育知识和遗传病知识的教育；

（二）婚前卫生咨询：对有关婚配、生育保健等问题提供医学意见；

（三）婚前医学检查：对准备结婚的男女双方可能患影响结婚和生育的疾病进行医学检查。

第八条　婚前医学检查包括对下列疾病的检查：

（一）严重遗传性疾病；

（二）指定传染病；

（三）有关精神病。

经婚前医学检查，医疗保健机构应当出具婚前医学检查证明。

第九条 经婚前医学检查，对患指定传染病在传染期内或者有关精神病在发病期内的，医师应当提出医学意见；准备结婚的男女双方应当暂缓结婚。

第十条 经婚前医学检查，对诊断患有医学上认为不宜生育的严重遗传性疾病的，医师应当向男女双方说明情况，提出医学意见；经男女双方同意，采取长效避孕措施或者施行结扎手术后不生育的，可以结婚。但《中华人民共和国婚姻法》规定禁止结婚的除外。

第十一条 接受婚前医学检查的人员对检查结果持有异议的，可以申请医学技术鉴定，取得医学鉴定证明。

第十二条 男女双方在结婚登记时，应当持有婚前医学检查证明或者医学鉴定证明。

第十三条 省、自治区、直辖市人民政府根据本地区的实际情况，制定婚前医学检查制度实施办法。

省、自治区、直辖市人民政府对婚前医学检查应当规定合理的收费标准，对边远贫困地区或者交费确有困难的人员应当给予减免。

第三章 孕产期保健

第十四条 医疗保健机构应当为育龄妇女和孕产妇提供孕产期保健服务。

孕产期保健服务包括下列内容：

（一）母婴保健指导：对孕育健康后代以及严重遗传性疾病和碘缺乏病等地方病的发病原因、治疗和预防方法提供医学意见；

（二）孕妇、产妇保健：为孕妇、产妇提供卫生、营养、心理等方面的咨询和指导以及产前定期检查等医疗保健服务；

（三）胎儿保健：为胎儿生长发育进行监护，提供咨询和医学指导；

（四）新生儿保健：为新生儿生长发育、哺乳和护理提供医疗保健服务。

第十五条 对患严重疾病或者接触致畸物质，妊娠可能危及孕妇生命安全或者可能严重影响孕妇健康和胎儿正常发育的，医疗保健机构应当予以医学指导。

第十六条 医师发现或者怀疑患严重遗传性疾病的育龄夫妻，应当提出医学意见。育龄夫妻应当根据医师的医学意见采取相应的措施。

第十七条 经产前检查，医师发现或者怀疑胎儿异常的，应当对孕妇进行产前诊断。

第十八条 经产前诊断，有下列情形之一的，医师应当向夫妻双方说明情况，并提出终止妊娠的医学意见：

（一）胎儿患严重遗传性疾病的；

（二）胎儿有严重缺陷的；

（三）因患严重疾病，继续妊娠可能危及孕妇生命安全或者严重危害孕妇健康的。

第十九条 依照本法规定施行终止妊娠或者结扎手术，应当经本人同意，并签署意见。本人无行为能力的，应当经其监护人同意，并签署意见。

依照本法规定施行终止妊娠或者结扎手术的，接受免费服务。

第二十条 生育过严重缺陷患儿的妇女再次妊娠前，夫妻双方应当到县级以上医疗保健机构接受医学检查。

第二十一条 医师和助产人员应当严格遵守有关操作规程，提高助产技术和服务质量，

预防和减少产伤。

第二十二条　不能住院分娩的孕妇应当由经过培训合格的接生人员实行消毒接生。

第二十三条　医疗保健机构和从事家庭接生的人员按照国务院卫生行政部门的规定，出具统一制发的新生儿出生医学证明；有产妇和婴儿死亡以及新生儿出生缺陷情况的，应当向卫生行政部门报告。

第二十四条　医疗保健机构为产妇提供科学育儿、合理营养和母乳喂养的指导。

医疗保健机构对婴儿进行体格检查和预防接种，逐步开展新生儿疾病筛查、婴儿多发病和常见病防治等医疗保健服务。

第四章　技术鉴定

第二十五条　县级以上地方人民政府可以设立医学技术鉴定组织，负责对婚前医学检查、遗传病诊断和产前诊断结果有异议的进行医学技术鉴定。

第二十六条　从事医学技术鉴定的人员，必须具有临床经验和医学遗传学知识，并具有主治医师以上的专业技术职务。

医学技术鉴定组织的组成人员，由卫生行政部门提名，同级人民政府聘任。

第二十七条　医学技术鉴定实行回避制度。凡与当事人有利害关系，可能影响公正鉴定的人员，应当回避。

第五章　行政管理

第二十八条　各级人民政府应当采取措施，加强母婴保健工作，提高医疗保健服务水平，积极防治由环境因素所致严重危害母亲和婴儿健康的地方性高发性疾病，促进母婴保健事业的发展。

第二十九条　县级以上地方人民政府卫生行政部门管理本行政区域内的母婴保健工作。

第三十条　省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门指定的医疗保健机构负责本行政区域内的母婴保健监测和技术指导。

第三十一条　医疗保健机构按照国务院卫生行政部门的规定，负责其职责范围内的母婴保健工作，建立医疗保健工作规范，提高医学技术水平，采取各种措施方便人民群众，做好母婴保健服务工作。

第三十二条　医疗保健机构依照本法规定开展婚前医学检查、遗传病诊断、产前诊断以及施行结扎手术和终止妊娠手术的，必须符合国务院卫生行政部门规定的条件和技术标准，并经县级以上地方人民政府卫生行政部门许可。

严禁采用技术手段对胎儿进行性别鉴定，但医学上确有需要的除外。

第三十三条　从事本法规定的遗传病诊断、产前诊断的人员，必须经过省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门的考核，并取得相应的合格证书。

从事本法规定的婚前医学检查、施行结扎手术和终止妊娠手术的人员以及从事家庭接生的人员，必须经过县级以上地方人民政府卫生行政部门的考核，并取得相应的合格证书。

第三十四条　从事母婴保健工作的人员应当严格遵守职业道德，为当事人保守秘密。

第六章　法律责任

第三十五条　未取得国家颁发的有关合格证书的，有下列行为之一，县级以上地方人民

政府卫生行政部门应当予以制止，并可以根据情节给予警告或者处以罚款：

（一）从事婚前医学检查、遗传病诊断、产前诊断或者医学技术鉴定的；

（二）施行终止妊娠手术的；

（三）出具本法规定的有关医学证明的。

上款第（三）项出具的有关医学证明无效。

第三十六条 未取得国家颁发的有关合格证书，施行终止妊娠手术或者采取其他方法终止妊娠，致人死亡、残疾、丧失或者基本丧失劳动能力的，依照刑法第一百三十四条、第一百三十五条的规定追究刑事责任。

第三十七条 从事母婴保健工作的人员违反本法规定，出具有关虚假医学证明或者进行胎儿性别鉴定的，由医疗保健机构或者卫生行政部门根据情节给予行政处分；情节严重的，依法取消执业资格。

第七章 附则

第三十八条 本法下列用语的含义：

指定传染病，是指《中华人民共和国传染病防治法》中规定的艾滋病、淋病、梅毒、麻风病以及医学上认为影响结婚和生育的其他传染病。

严重遗传性疾病，是指由于遗传因素先天形成，患者全部或者部分丧失自主生活能力，后代再现风险高，医学上认为不宜生育的遗传性疾病。

有关精神病，是指精神分裂症、躁狂抑郁型精神病以及其他重型精神病。

产前诊断，是指对胎儿进行先天性缺陷和遗传性疾病的诊断。

第三十九条 本法自 1995 年 6 月 1 日起施行。

二、中华人民共和国母婴保健法实施办法

第一章 总则

第一条 根据《中华人民共和国母婴保健法》（以下简称母婴保健法），制定本办法。

第二条 在中华人民共和国境内从事母婴保健服务活动的机构及其人员应当遵守母婴保健法和本办法。

从事计划生育技术服务的机构开展计划生育技术服务活动，依照《计划生育技术服务管理条例》的规定执行。

第三条 母婴保健技术服务主要包括下列事项：（一）有关母婴保健的科普宣传、教育和咨询；（二）婚前医学检查；（三）产前诊断和遗传病诊断；（四）助产技术；（五）实施医学上需要的节育手术；（六）新生儿疾病筛查；（七）有关生育、节育、不育的其他生殖保健服务。

第四条 公民享有母婴保健的知情选择权。国家保障公民获得适宜的母婴保健服务的权利。

第五条 母婴保健工作以保健为中心，以保障生殖健康为目的，实行保健和临床相结合，面向群体、面向基层和预防为主的方针。

第六条 各级人民政府应当将母婴保健工作纳入本级国民经济和社会发展计划，为母婴

保健事业的发展提供必要的经济、技术和物质条件，并对少数民族地区、贫困地区的母婴保健事业给予特殊支持。

县级以上地方人民政府根据本地区的实际情况和需要，可以设立母婴保健事业发展专项资金。

第七条　国务院卫生行政部门主管全国母婴保健工作，履行下列职责：（一）制定母婴保健法及本办法的配套规章和技术规范；（二）按照分级分类指导的原则，制定全国母婴保健工作发展规划和实施步骤；（三）组织推广母婴保健及其他生殖健康的适宜技术；（四）对母婴保健工作实施监督。

第八条　县级以上各级人民政府财政、公安、民政、教育、劳动保障、计划生育等部门应当在各自职责范围内，配合同级卫生行政部门做好母婴保健工作。

第二章　婚前保健

第九条　母婴保健法第七条所称婚前卫生指导，包括下列事项：（一）有关性卫生的保健和教育；（二）新婚避孕知识及计划生育指导；（三）受孕前的准备、环境和疾病对后代影响等孕前保健知识；（四）遗传病的基本知识；（五）影响婚育的有关疾病的基本知识；（六）其他生殖健康知识。医师进行婚前卫生咨询时，应当为服务对象提供科学的信息，对可能产生的后果进行指导，并提出适当的建议。

第十条　在实行婚前医学检查的地区，准备结婚的男女双方在办理结婚登记前，应当到医疗、保健机构进行婚前医学检查。

第十一条　从事婚前医学检查的医疗、保健机构，由其所在地设区的市级人民政府卫生行政部门进行审查；符合条件的，在其《医疗机构执业许可证》上注明。

第十二条　申请从事婚前医学检查的医疗、保健机构应当具备下列条件：（一）分别设置专用的男、女婚前医学检查室，配备常规检查和专科检查设备；（二）设置婚前生殖健康宣传教育室；（三）具有符合条件的进行男、女婚前医学检查的执业医师。

第十三条　婚前医学检查包括询问病史、体格及相关检查。

婚前医学检查应当遵守婚前保健工作规范并按照婚前医学检查项目进行。婚前保健工作规范和婚前医学检查项目由国务院卫生行政部门规定。

第十四条　经婚前医学检查，医疗、保健机构应当向接受婚前医学检查的当事人出具婚前医学检查证明。

婚前医学检查证明应当列明是否发现下列疾病：（一）在传染期内的指定传染病；（二）在发病期内的有关精神病；（三）不宜生育的严重遗传性疾病；（四）医学上认为不宜结婚的其他疾病。发现前款第（一）项、第（二）项、第（三）项疾病的，医师应当向当事人说明情况，提出预防、治疗以及采取相应医学措施的建议。当事人依据医生的医学意见，可以暂缓结婚，也可以自愿采用长效避孕措施或者结扎手术；医疗、保健机构应当为其治疗提供医学咨询和医疗服务。

第十五条　经婚前医学检查，医疗、保健机构不能确诊的，应当转到设区的市级以上人民政府卫生行政部门指定的医疗、保健机构确诊。

第十六条　在实行婚前医学检查的地区，婚姻登记机关在办理结婚登记时，应当查验婚前医学检查证明或者母婴保健法第十一条规定的医学鉴定证明。

第三章 孕产期保健

第十七条 医疗、保健机构应当为育龄妇女提供有关避孕、节育、生育、不育和生殖健康的咨询和医疗保健服务。

医师发现或者怀疑育龄夫妻患有严重遗传性疾病的，应当提出医学意见；限于现有医疗技术水平难以确诊的，应当向当事人说明情况。育龄夫妻可以选择避孕、节育、不孕等相应的医学措施。

第十八条 医疗、保健机构应当为孕产妇提供下列医疗保健服务：（一）为孕产妇建立保健手册（卡），定期进行产前检查；（二）为孕产妇提供卫生、营养、心理等方面的医学指导与咨询；（三）对高危孕妇进行重点监护、随访和医疗保健服务；（四）为孕产妇提供安全分娩技术服务；（五）定期进行产后访视，指导产妇科学喂养婴儿；（六）提供避孕咨询指导和技术服务；（七）对产妇及其家属进行生殖健康教育和科学育儿知识教育；（八）其他孕产期保健服务。

第十九条 医疗、保健机构发现孕妇患有下列严重疾病或者接触物理、化学、生物等有毒、有害因素，可能危及孕妇生命安全或者可能严重影响孕妇健康和胎儿正常发育的，应当对孕妇进行医学指导和下列必要的医学检查：（一）严重的妊娠合并证或者并发证；（二）严重的精神性疾病；（三）国务院卫生行政部门规定的严重影响生育的其他疾病。

第二十条 孕妇有下列情形之一的，医师应当对其进行产前诊断：（一）羊水过多或者过少的；（二）胎儿发育异常或者胎儿有可疑畸形的；（三）孕早期接触过可能导致胎儿先天缺陷的物质的；（四）有遗传病家族史或者曾经分娩过先天性严重缺陷婴儿的；（五）初产妇年龄超过 35 周岁的。

第二十一条 母婴保健法第十八条规定的胎儿的严重遗传性疾病、胎儿的严重缺陷、孕妇患继续妊娠可能危及其生命健康和安全的严重疾病目录，由国务院卫生行政部门规定。

第二十二条 生育过严重遗传性疾病或者严重缺陷患儿的，再次妊娠前，夫妻双方应当按照国家有关规定到医疗、保健机构进行医学检查。医疗、保健机构应当向当事人介绍有关遗传性疾病的知识，给予咨询、指导。对诊断患有医学上认为不宜生育的严重遗传性疾病的，医师应当向当事人说明情况，并提出医学意见。

第二十三条 严禁采用技术手段对胎儿进行性别鉴定。

对怀疑胎儿可能为伴性遗传病，需要进行性别鉴定的，由省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门指定的医疗、保健机构按照国务院卫生行政部门的规定进行鉴定。

第二十四条 国家提倡住院分娩。医疗、保健机构应当按照国务院卫生行政部门制定的技术操作规范，实施消毒接生和新生儿复苏，预防产伤及产后出血等产科并发证，降低孕产妇及围产儿发病率、死亡率。

没有条件住院分娩的，应当由经县级地方人民政府卫生行政部门许可并取得家庭接生员技术证书的人员接生。

高危孕妇应当在医疗、保健机构住院分娩。

第四章 婴儿保健

第二十五条 医疗、保健机构应当按照国家有关规定开展新生儿先天性、遗传性代谢病筛查、诊断、治疗和监测。

第二十六条　医疗、保健机构应当按照规定进行新生儿访视，建立儿童保健手册（卡），定期对其进行健康检查，提供有关预防疾病、合理膳食、促进智力发育等科学知识，做好婴儿多发病、常见病防治等医疗保健服务。

第二十七条　医疗、保健机构应当按照规定的程序和项目对婴儿进行预防接种。

婴儿的监护人应当保证婴儿及时接受预防接种。

第二十八条　国家推行母乳喂养。医疗、保健机构应当为实施母乳喂养提供技术指导，为住院分娩的产妇提供必要的母乳喂养条件。

医疗、保健机构不得向孕产妇和婴儿家庭宣传、推荐母乳代用品。

第二十九条　母乳代用品产品包装标签应当在显著位置标明母乳喂养的优越性。

母乳代用品生产者、销售者不得向医疗、保健机构赠送产品样品或者以推销为目的有条件地提供设备、资金和资料。

第三十条　妇女享有国家规定的产假。有不满1周岁婴儿的妇女，所在单位应当在劳动时间内为其安排一定的哺乳时间。

第五章　技术鉴定

第三十一条　母婴保健医学技术鉴定委员会分为省、市、县三级。

母婴保健医学技术鉴定委员会成员应当符合下列任职条件：（一）县级母婴保健医学技术鉴定委员会成员应当具有主治医师以上专业技术职务；（二）设区的市级和省级母婴保健医学技术鉴定委员会成员应当具有副主任医师以上专业技术职务。

第三十二条　当事人对婚前医学检查、遗传病诊断、产前诊断结果有异议，需要进一步确诊的，可以自接到检查或者诊断结果之日起15日内向所在地县级或者设区的市级母婴保健医学技术鉴定委员会提出书面鉴定申请。

母婴保健医学技术鉴定委员会应当自接到鉴定申请之日起30日内作出医学技术鉴定意见，并及时通知当事人。

当事人对鉴定意见有异议的，可以自接到鉴定意见通知书之日起15日内向上一级母婴保健医学技术鉴定委员会申请再鉴定。

第三十三条　母婴保健医学技术鉴定委员会进行医学鉴定时须有5名以上相关专业医学技术鉴定委员会成员参加。

鉴定委员会成员应当在鉴定结论上署名；不同意见应当如实记录。鉴定委员会根据鉴定结论向当事人出具鉴定意见书。

母婴保健医学技术鉴定管理办法由国务院卫生行政部门制定。

第六章　监督管理

第三十四条　县级以上地方人民政府卫生行政部门负责本行政区域内的母婴保健监督管理工作，履行下列监督管理职责：（一）依照母婴保健法和本办法以及国务院卫生行政部门规定的条件和技术标准，对从事母婴保健工作的机构和人员实施许可，并核发相应的许可证书；（二）对母婴保健法和本办法的执行情况进行监督检查；（三）对违反母婴保健法和本办法的行为，依法给予行政处罚；（四）负责母婴保健工作监督管理的其他事项。

第三十五条　从事遗传病诊断、产前诊断的医疗、保健机构和人员，须经省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门许可。

从事婚前医学检查的医疗、保健机构和人员，须经设区的市级人民政府卫生行政部门许可。

从事助产技术服务、结扎手术和终止妊娠手术的医疗、保健机构和人员以及从事家庭接生的人员，须经县级人民政府卫生行政部门许可，并取得相应的合格证书。

第三十六条 卫生监督人员在执行职务时，应当出示证件。卫生监督人员可以向医疗、保健机构了解情况，索取必要的资料，对母婴保健工作进行监督、检查，医疗、保健机构不得拒绝和隐瞒。

卫生监督人员对医疗、保健机构提供的技术资料负有保密的义务。

第三十七条 医疗、保健机构应当根据其从事的业务，配备相应的人员和医疗设备，对从事母婴保健工作的人员加强岗位业务培训和职业道德教育，并定期对其进行检查、考核。

医师和助产人员（包括家庭接生人员）应当严格遵守有关技术操作规范，认真填写各项记录，提高助产技术和服务质量。

助产人员的管理，按照国务院卫生行政部门的规定执行。

从事母婴保健工作的执业医师应当依照母婴保健法的规定取得相应的资格。

第三十八条 医疗、保健机构应当按照国务院卫生行政部门的规定，对托幼园、所卫生保健工作进行业务指导。

第三十九条 国家建立孕产妇死亡、婴儿死亡和新生儿出生缺陷监测、报告制度。

第七章 罚则

第四十条 医疗、保健机构或者人员未取得母婴保健技术许可，擅自从事婚前医学检查、遗传病诊断、产前诊断、终止妊娠手术和医学技术鉴定或者出具有关医学证明的，由卫生行政部门给予警告，责令停止违法行为，没收违法所得；违法所得5 000元以上的，并处违法所得 3 倍以上 5 倍以下的罚款；没有违法所得或者违法所得不足5 000元的，并处5 000元以上 2 万元以下的罚款。

第四十一条 从事母婴保健技术服务的人员出具虚假医学证明文件的，依法给予行政处分；有下列情形之一的，由原发证部门撤销相应的母婴保健技术执业资格或者医师执业证书：（一）因延误诊治，造成严重后果的；（二）给当事人身心健康造成严重后果的；（三）造成其他严重后果的。

第四十二条 违反本办法规定进行胎儿性别鉴定的，由卫生行政部门给予警告，责令停止违法行为；对医疗、保健机构直接负责的主管人员和其他直接责任人员，依法给予行政处分。进行胎儿性别鉴定两次以上的或者以营利为目的进行胎儿性别鉴定的，并由原发证机关撤销相应的母婴保健技术执业资格或者医师执业证书。

第八章 附则

第四十三条 婚前医学检查证明的格式由国务院卫生行政部门规定。

第四十四条 母婴保健法及本办法所称的医疗、保健机构，是指依照《医疗机构管理条例》取得卫生行政部门医疗机构执业许可的各级各类医疗机构。

第四十五条 本办法自公布之日起施行。

三、中华人民共和国婚姻法（新）

（1980年9月10日第五届全国人民代表大会第三次会议通过，根据2001年4月28日第九届全国人民代表大会常务委员会第二十一次会议《关于修改〈中华人民共和国婚姻法〉的决定》修正）

第一章　总 则

第一条　本法是婚姻家庭关系的基本准则。

第二条　实行婚姻自由、一夫一妻、男女平等的婚姻制度。保护妇女、儿童和老人的合法权益。实行计划生育。

第三条　禁止包办、买卖婚姻和其他干涉婚姻自由的行为。禁止借婚姻索取财物。禁止重婚。禁止有配偶者与他人同居。禁止家庭暴力。禁止家庭成员间的虐待和遗弃。

第四条　夫妻应当互相忠实，互相尊重；家庭成员间应当敬老爱幼，互相帮助，维护平等、和睦、文明的婚姻家庭关系。

第二章　结 婚

第五条　结婚必须男女双方完全自愿，不许任何一方对他方加以强迫或任何第三者加以干涉。

第六条　结婚年龄，男不得早于二十二周岁，女不得早于二十周岁。晚婚晚育应予鼓励。

第七条　有下列情形之一的，禁止结婚：

（一）直系血亲和三代以内的旁系血亲；

（二）患有医学上认为不应当结婚的疾病。

第八条　要求结婚的男女双方必须亲自到婚姻登记机关进行结婚登记。符合本法规定的，予以登记，发给结婚证。取得结婚证，即确立夫妻关系。未办理结婚登记的，应当补办登记。

第九条　登记结婚后，根据男女双方约定，女方可以成为男方家庭的成员，男方可以成为女方家庭的成员。

第十条　有下列情形之一的，婚姻无效：

（一）重婚的；

（二）有禁止结婚的亲属关系的；

（三）婚前患有医学上认为不应当结婚的疾病，婚后尚未治愈的；

（四）未到法定婚龄的。

第十一条　因胁迫结婚的，受胁迫的一方可以向婚姻登记机关或人民法院请求撤销该婚姻。受胁迫的一方撤销婚姻的请求，应当自结婚登记之日起一年内提出。被非法限制人身自由的当事人请求撤销婚姻的，应当自恢复人身自由之日起一年内提出。

第十二条　无效或被撤销的婚姻，自始无效。当事人不具有夫妻的权利和义务。同居期间所得的财产，由当事人协议处理；协议不成时，由人民法院根据照顾无过错方的原则判决。对重婚导致的婚姻无效的财产处理，不得侵害合法婚姻当事人的财产权益。当事人所生

的子女，适用本法有关父母子女的规定。

第三章 家庭关系

第十三条 夫妻在家庭中地位平等。

第十四条 夫妻双方都有各用自己姓名的权利。

第十五条 夫妻双方都有参加生产、工作、学习和社会活动的自由，一方不得对他方加以限制或干涉。

第十六条 夫妻双方都有实行计划生育的义务。

第十七条 夫妻在婚姻关系存续期间所得的下列财产，归夫妻共同所有：

（一）工资、奖金；

（二）生产、经营的收益；

（三）知识产权的收益；

（四）继承或赠与所得的财产，但本法第十八条第三项规定的除外；

（五）其他应当归共同所有的财产。

夫妻对共同所有的财产，有平等的处理权。

第十八条 有下列情形之一的，为夫妻一方的财产：

（一）一方的婚前财产；

（二）一方因身体受到伤害获得的医疗费、残疾人生活补助费等费用；

（三）遗嘱或赠与合同中确定只归夫或妻一方的财产；

（四）一方专用的生活用品；

（五）其他应当归一方的财产。

第十九条 夫妻可以约定婚姻关系存续期间所得的财产以及婚前财产归各自所有、共同所有或部分各自所有、部分共同所有。约定应当采用书面形式。没有约定或约定不明确的，适用本法第十七条、第十八条的规定。

夫妻对婚姻关系存续期间所得的财产以及婚前财产的约定，对双方具有约束力。夫妻对婚姻关系存续期间所得的财产约定归各自所有的，夫或妻一方对外所负的债务，第三人知道该约定的，以夫或妻一方所有的财产清偿。

第二十条 夫妻有互相扶养的义务。

一方不履行扶养义务时，需要扶养的一方，有要求对方付给扶养费的权利。

第二十一条 父母对子女有抚养教育的义务；子女对父母有赡养扶助的义务。父母不履行抚养义务时，未成年的或不能独立生活的子女，有要求父母付给抚养费的权利。子女不履行赡养义务时，无劳动能力的或生活困难的父母，有要求子女付给赡养费的权利。禁止溺婴、弃婴和其他残害婴儿的行为。

第二十二条 子女可以随父姓，可以随母姓。

第二十三条 父母有保护和教育未成年子女的权利和义务。在未成年子女对国家、集体或他人造成损害时，父母有承担民事责任的义务。

第二十四条 夫妻有相互继承遗产的权利。

父母和子女有相互继承遗产的权利。

第二十五条 非婚生子女享有与婚生子女同等的权利，任何人不得加以危害和歧视。不直接抚养非婚生子女的生父或生母，应当负担子女的生活费和教育费，直至子女能独立生活

为止。

第二十六条　国家保护合法的收养关系。养父母和养子女间的权利和义务，适用本法对父母子女关系的有关规定。养子女和生父母间的权利和义务，因收养关系的成立而消除。

第二十七条　继父母与继子女间，不得虐待或歧视。

继父或继母和受其抚养教育的继子女间的权利和义务，适用本法对父母子女关系的有关规定。

第二十八条　有负担能力的祖父母、外祖父母，对于父母已经死亡或父母无力抚养的未成年的孙子女、外孙子女，有抚养的义务。有负担能力的孙子女、外孙子女，对于子女已经死亡或子女无力赡养的祖父母、外祖父母，有赡养的义务。

第二十九条　有负担能力的兄、姐，对于父母已经死亡或父母无力抚养的未成年的弟、妹，有扶养的义务。由兄、姐抚养长大的有负担能力的弟、妹，对于缺乏劳动能力又缺乏生活来源的兄、姐，有扶养的义务。

第三十条　子女应当尊重父母的婚姻权利，不得干涉父母再婚以及婚后的生活。子女对父母的赡养义务，不因父母的婚姻关系变化而终止。

第四章　离 婚

第三十一条　男女双方自愿离婚的，准予离婚。双方必须到婚姻登记机关申请离婚。婚姻登记机关查明双方确实是自愿并对子女和财产问题已有适当处理时，发给离婚证。

第三十二条　男女一方要求离婚的，可由有关部门进行调解或直接向人民法院提出离婚诉讼。人民法院审理离婚案件，应当进行调解；如感情确已破裂，调解无效，应准予离婚。

有下列情形之一，调解无效的，应准予离婚：

（一）重婚或有配偶者与他人同居的；

（二）实施家庭暴力或虐待、遗弃家庭成员的；

（三）有赌博、吸毒等恶习屡教不改的；

（四）因感情不和分居满二年的；

（五）其他导致夫妻感情破裂的情形。

一方被宣告失踪，另一方提出离婚诉讼的，应准予离婚。

第三十三条　现役军人的配偶要求离婚，须得军人同意，但军人一方有重大过错的除外。

第三十四条　女方在怀孕期间、分娩后一年内或中止妊娠后六个月内，男方不得提出离婚。女方提出离婚的，或人民法院认为确有必要受理男方离婚请求的，不在此限。

第三十五条　离婚后，男女双方自愿恢复夫妻关系的，必须到婚姻登记机关进行复婚登记。

第三十六条　父母与子女间的关系，不因父母离婚而消除。离婚后，子女无论由父或母直接抚养，仍是父母双方的子女。离婚后，父母对于子女仍有抚养和教育的权利和义务。离婚后，哺乳期内的子女，以随哺乳的母亲抚养为原则。哺乳期后的子女，如双方因抚养问题发生争执不能达成协议时，由人民法院根据子女的权益和双方的具体情况判决。

第三十七条　离婚后，一方抚养的子女，另一方应负担必要的生活费和教育费的一部或全部，负担费用的多少和期限的长短，由双方协议；协议不成时，由人民法院判决。关于子女生活费和教育费的协议或判决，不妨碍子女在必要时向父母任何一方提出超过协议或判决

原定数额的合理要求。

第三十八条 离婚后，不直接抚养子女的父或母，有探望子女的权利，另一方有协助的义务。行使探望权利的方式、时间由当事人协议；协议不成时，由人民法院判决。

父或母探望子女，不利于子女身心健康的，由人民法院依法中止探望的权利；中止的事由消失后，应当恢复探望的权利。

第三十九条 离婚时，夫妻的共同财产由双方协议处理；协议不成时，由人民法院根据财产的具体情况，照顾子女和女方权益的原则判决。夫或妻在家庭土地承包经营中享有的权益等，应当依法予以保护。

第四十条 夫妻书面约定婚姻关系存续期间所得的财产归各自所有，一方因抚育子女、照料老人、协助另一方工作等付出较多义务的，离婚时有权向另一方请求补偿，另一方应当予以补偿。

第四十一条 离婚时，原为夫妻共同生活所负的债务，应当共同偿还。共同财产不足清偿的，或财产归各自所有的，由双方协议清偿；协议不成时，由人民法院判决。

第四十二条 离婚时，如一方生活困难，另一方应从其住房等个人财产中给予适当帮助。具体办法由双方协议；协议不成时，由人民法院判决。

第五章 救助措施与法律责任

第四十三条 实施家庭暴力或虐待家庭成员，受害人有权提出请求，居民委员会、村民委员会以及所在单位应当予以劝阻、调解。对正在实施的家庭暴力，受害人有权提出请求，居民委员会、村民委员会应当予以劝阻；公安机关应当予以制止。实施家庭暴力或虐待家庭成员，受害人提出请求的，公安机关应当依照治安管理处罚的法律规定予以行政处罚。

第四十四条 对遗弃家庭成员，受害人有权提出请求，居民委员会、村民委员会以及所在单位应当予以劝阻、调解。对遗弃家庭成员，受害人提出请求的，人民法院应当依法作出支付扶养费、抚养费、赡养费的判决。

第四十五条 对重婚的，对实施家庭暴力或虐待、遗弃家庭成员构成犯罪的，依法追究刑事责任。受害人可以依照刑事诉讼法的有关规定，向人民法院自诉；公安机关应当依法侦查，人民检察院应当依法提起公诉。

第四十六条 有下列情形之一，导致离婚的，无过错方有权请求损害赔偿：

（一）重婚的；

（二）有配偶者与他人同居的；

（三）实施家庭暴力的；

（四）虐待、遗弃家庭成员的。

第四十七条 离婚时，一方隐藏、转移、变卖、毁损夫妻共同财产，或伪造债务企图侵占另一方财产的，分割夫妻共同财产时，对隐藏、转移、变卖、毁损夫妻共同财产或伪造债务的一方，可以少分或不分。离婚后，另一方发现有上述行为的，可以向人民法院提起诉讼，请求再次分割夫妻共同财产。人民法院对前款规定的妨害民事诉讼的行为，依照民事诉讼法的规定予以制裁。

第四十八条 对拒不执行有关扶养费、抚养费、赡养费、财产分割、遗产继承、探望子女等判决或裁定的，由人民法院依法强制执行。有关个人和单位应负协助执行的责任。

第四十九条 其他法律对有关婚姻家庭的违法行为和法律责任另有规定的，依照其

规定。

第六章　附 则

第五十条　民族自治地方的人民代表大会有权结合当地民族婚姻家庭的具体情况，制定变通规定。自治州、自治县制定的变通规定，报省、自治区、直辖市人民代表大会常务委员会批准后生效。自治区制定的变通规定，报全国人民代表大会常务委员会批准后生效。

第五十一条　本法自 1981 年 1 月 1 日起施行。

1950 年 5 月 1 日颁行的《中华人民共和国婚姻法》，自本法施行之日起废止。

四、产前诊断技术管理办法

中华人民共和国卫生部令 33 号

第一章　总　则

第一条　为保障母婴健康，提高出生人口素质，保证产前诊断技术的安全、有效，规范产前诊断技术的监督管理，依据《中华人民共和国母婴保健法》以及《中华人民共和国母婴保健法实施办法》，制定本管理办法。

第二条　本管理办法中所称的产前诊断，是指对胎儿进行先天性缺陷和遗传性疾病的诊断，包括相应筛查。

产前诊断技术项目包括遗传咨询、医学影像、生化免疫、细胞遗传和分子遗传等。

第三条　本管理办法适用于各类开展产前诊断技术的医疗保健机构。

第四条　产前诊断技术的应用应当以医疗为目的，符合国家有关法律规定和伦理原则，由经资格认定的医务人员在经许可的医疗保健机构中进行。

医疗保健机构和医务人员不得实施任何非医疗目的的产前诊断技术。

第五条　卫生部负责全国产前诊断技术应用的监督管理工作。

第二章　管理与审批

第六条　卫生部根据医疗需求、技术发展状况、组织与管理的需要等实际情况，制定产前诊断技术应用规划。

第七条　产前诊断技术应用实行分级管理。

卫生部制定开展产前诊断技术医疗保健机构的基本条件和人员条件；颁布有关产前诊断的技术规范；指定国家级开展产前诊断技术的医疗保健机构；对全国产前诊断技术应用进行质量管理和信息管理；对全国产前诊断专业技术人员的培训进行规划。

省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门（以下简称省级卫生行政部门）根据当地实际，因地制宜地规划、审批或组建本行政区域内开展产前诊断技术的医疗保健机构；对从事产前诊断技术的专业人员进行系统培训和资格认定；对产前诊断技术应用进行质量管理和信息管理。

县级以上人民政府卫生行政部门负责本行政区域内产前诊断技术应用的日常监督管理。

第八条　从事产前诊断的卫生专业技术人员应符合以下所有条件：

（一）从事临床工作的，应取得执业医师资格；

（二）从事医技和辅助工作的，应取得相应卫生专业技术职称；

（三）符合《从事产前诊断卫生专业技术人员的基本条件》；

（四）经省级卫生行政部门批准，取得从事产前诊断的《母婴保健技术考核合格证书》。

第九条 申请开展产前诊断技术的医疗保健机构应符合下列所有条件：

（一）设有妇产科诊疗科目；

（二）具有与所开展技术相适应的卫生专业技术人员；

（三）具有与所开展技术相适应的技术条件和设备；

（四）设有医学伦理委员会；

（五）符合《开展产前诊断技术医疗保健机构的基本条件》及相关技术规范。

第十条 申请开展产前诊断技术的医疗保健机构应当向所在地省级卫生行政部门提交下列文件：

（一）医疗机构执业许可证副本；

（二）开展产前诊断技术的母婴保健技术服务执业许可申请文件；

（三）可行性报告；

（四）拟开展产前诊断技术的人员配备、设备和技术条件情况；

（五）开展产前诊断技术的规章制度；

（六）省级以上卫生行政部门规定提交的其他材料。

申请开展产前诊断技术的医疗保健机构，必须明确提出拟开展的产前诊断具体技术项目。

第十一条 申请开展产前诊断技术的医疗保健机构，由所属省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门审查批准。省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门收到本办法第十条规定的材料后，组织有关专家进行论证，并在收到专家论证报告后 30 个工作日内进行审核。经审核同意的，发给开展产前诊断技术的母婴保健技术服务执业许可证，注明开展产前诊断以及具体技术服务项目；经审核不同意的，书面通知申请单位。

第十二条 卫生部根据全国产前诊断技术发展需要，在经审批合格的开展产前诊断技术服务的医疗保健机构中，指定国家级开展产前诊断技术的医疗保健机构。

第十三条 开展产前诊断技术的《母婴保健技术服务执业许可证》每三年校验一次，校验由原审批机关办理。经校验合格的，可继续开展产前诊断技术；经校验不合格的，撤销其许可证书。

第十四条 省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门指定的医疗保健机构，协助卫生行政部门负责对本行政区域内产前诊断的组织管理工作。

第十五条 从事产前诊断的人员不得在未许可开展产前诊断技术的医疗保健机构中从事相关工作。

第三章 实 施

第十六条 对一般孕妇实施产前筛查以及应用产前诊断技术坚持知情选择。开展产前筛查的医疗保健机构要与经许可开展产前诊断技术的医疗保健机构建立工作联系，保证筛查病例能落实后续诊断。

第十七条 孕妇有下列情形之一的，经治医师应当建议其进行产前诊断：

（一）羊水过多或者过少的；

（二）胎儿发育异常或者胎儿有可疑畸形的；

（三）孕早期时接触过可能导致胎儿先天缺陷的物质的；

（四）有遗传病家族史或者曾经分娩过先天性严重缺陷婴儿的；

（五）年龄超过35周岁的。

第十八条　既往生育过严重遗传性疾病或者严重缺陷患儿的，再次妊娠前，夫妻双方应当到医疗保健机构进行遗传咨询。医务人员应当对当事人介绍有关知识，给予咨询和指导。

经治医师根据咨询的结果，对当事人提出医学建议。

第十九条　确定产前诊断重点疾病，应当符合下列条件：

（一）疾病发生率较高；

（二）疾病危害严重，社会、家庭和个人疾病负担大；

（三）疾病缺乏有效的临床治疗方法；

（四）诊断技术成熟、可靠、安全和有效。

第二十条　开展产前检查、助产技术的医疗保健机构在为孕妇进行早孕检查或产前检查时，遇到本办法第十七条所列情形的孕妇，应当进行有关知识的普及，提供咨询服务，并以书面形式如实告知孕妇或其家属，建议孕妇进行产前诊断。

第二十一条　孕妇自行提出进行产前诊断的，经治医师可根据其情况提供医学咨询，由孕妇决定是否实施产前诊断技术。

第二十二条　开展产前诊断技术的医疗保健机构出具的产前诊断报告，应当由2名以上经资格认定的执业医师签发。

第二十三条　对于产前诊断技术及诊断结果，经治医师应本着科学、负责的态度，向孕妇或家属告知技术的安全性、有效性和风险性，使孕妇或家属理解技术可能存在的风险和结果的不确定性。

第二十四条　在发现胎儿异常的情况下，经治医师必须将继续妊娠和终止妊娠可能出现的结果以及进一步处理意见，以书面形式明确告知孕妇，由孕妇夫妻双方自行选择处理方案，并签署知情同意书。

若孕妇缺乏认知能力，由其近亲属代为选择。涉及伦理问题的，应当交医学伦理委员会讨论。

第二十五条　开展产前诊断技术的医疗保健机构对经产前诊断后终止妊娠娩出的胎儿，在征得其家属同意后，进行尸体病理学解剖及相关的遗传学检查。

第二十六条　当事人对产前诊断结果有异议的，可以依据《中华人民共和国母婴保健法实施办法》第五章的有关规定，申请技术鉴定。

第二十七条　开展产前诊断技术的医疗保健机构不得擅自进行胎儿的性别鉴定。对怀疑胎儿可能为伴性遗传病，需要进行性别鉴定的，由省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门指定的医疗保健机构按照有关规定进行鉴定。

第二十八条　开展产前诊断技术的医疗保健机构应当建立健全技术档案管理和追踪观察制度。

第四章　处　罚

第二十九条　违反本办法规定，未经批准擅自开展产前诊断技术的非医疗保健机构，按照《医疗机构管理条例》有关规定进行处罚。

第三十条 对违反本办法，医疗保健机构未取得产前诊断执业许可或超越许可范围，擅自从事产前诊断的，按照《中华人民共和国母婴保健法实施办法》有关规定处罚，由卫生行政部门给予警告，责令停止违法行为，没收违法所得；违法所得5 000元以上的，并处违法所得3倍以上5倍以下的罚款；违法所得不足5 000元的，并处5 000元以上2万元以下的罚款。情节严重的，依据《医疗机构管理条例》依法吊销医疗机构执业许可证。

第三十一条 对未取得产前诊断类母婴保健技术考核合格证书的个人，擅自从事产前诊断或超越许可范围的，由县级以上人民政府卫生行政部门给予警告或者责令暂停六个月以上一年以下执业活动；情节严重的，按照《中华人民共和国执业医师法》吊销其医师执业证书。构成犯罪的，依法追究刑事责任。

第三十二条 违反本办法第二十七条规定，按照《中华人民共和国母婴保健法实施办法》第四十二条规定处罚。

第五章 附 则

第三十三条 各省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门可以根据本办法和本地实际情况制定实施细则。

第三十四条 本办法自2003年5月1日起施行。

五、人类辅助生殖技术管理办法

中华人民共和国卫生部令

第一章 总 则

第一条 为保证人类辅助生殖技术安全、有效和健康发展，规范人类辅助生殖技术的应用和管理，保障人民健康，制定本办法。

第二条 本办法适用于开展人类辅助生殖技术的各类医疗机构。

第三条 人类辅助生殖技术的应用应当在医疗机构中进行，以医疗为目的，并符合国家计划生育政策、伦理原则和有关法律规定。禁止以任何形式买卖配子、合子、胚胎。医疗机构和医务人员不得实施任何形式的代孕技术。

第四条 卫生部主管全国人类辅助生殖技术应用的监督管理工作。县级以上地方人民政府卫生行政部门负责本行政区域内人类辅助生殖技术的日常监督管理。

第二章 审 批

第五条 卫生部根据区域卫生规划、医疗需求和技术条件等实际情况，制订人类辅助生殖技术应用规划。

第六条 申请开展人类辅助生殖技术的医疗机构应当符合下列条件：

（一）具有与开展技术相适应的卫生专业技术人员和其他专业技术人员；

（二）具有与开展技术相适应的技术和设备；

（三）设有医学伦理委员会；

（四）符合卫生部制定的《人类辅助生殖技术规范》的要求。

第七条 申请开展人类辅助生殖技术的医疗机构应当向所在地省、自治区、直辖市人民

政府卫生行政部门提交下列文件：

（一）可行性报告；

（二）医疗机构基本情况（包括床位数、科室设置情况、人员情况、设备和技术条件情况等）；

（三）拟开展的人类辅助生殖技术的业务项目和技术条件、设备条件、技术人员配备情况；

（四）开展人类辅助生殖技术的规章制度；

（五）省级以上卫生行政部门规定提交的其他材料。

第八条　申请开展丈夫精液人工授精技术的医疗机构，由省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门审查批准。省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门收到前条规定的材料后，可以组织有关专家进行论证，并在收到专家论证报告后30个工作日内进行审核，审核同意的，发给批准证书；审核不同意的，书面通知申请单位。

对申请开展供精人工授精和体外受精－胚胎移植技术及其衍生技术的医疗机构，由省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门提出初审意见，卫生部审批。

第九条　卫生部收到省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门的初审意见和材料后，聘请有关专家进行论证，并在收到专家论证报告后45个工作日内进行审核，审核同意的，发给批准证书；审核不同意的，书面通知申请单位。

第十条　批准开展人类辅助生殖技术的医疗机构应当按照《医疗机构管理条例》的有关规定，持省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门或者卫生部的批准证书到核发其医疗机构执业许可证的卫生行政部门办理变更登记手续。

第十一条　人类辅助生殖技术批准证书每2年校验一次，校验由原审批机关办理。校验合格的，可以继续开展人类辅助生殖技术；校验不合格的，收回其批准证书。

第三章　实　施

第十二条　人类辅助生殖技术必须在经过批准并进行登记的医疗机构中实施。未经卫生行政部门批准，任何单位和个人不得实施人类辅助生殖技术。

第十三条　实施人类辅助生殖技术应当符合卫生部制定的《人类辅助生殖技术规范》的规定。

第十四条　实施人类辅助生殖技术应当遵循知情同意原则，并签署知情同意书。涉及伦理问题的，应当提交医学伦理委员会讨论。

第十五条　实施供精人工授精和体外受精－胚胎移植技术及其各种衍生技术的医疗机构应当与卫生部批准的人类精子库签订供精协议。严禁私自采精。

医疗机构在实施人类辅助生殖技术时应当索取精子检验合格证明。

第十六条　实施人类辅助生殖技术的医疗机构应当为当事人保密，不得泄漏有关信息。

第十七条　实施人类辅助生殖技术的医疗机构不得进行性别选择。法律法规另有规定的除外。

第十八条　实施人类辅助生殖技术的医疗机构应当建立健全技术档案管理制度。

供精人工授精医疗行为方面的医疗技术档案和法律文书应当永久保存。

第十九条　实施人类辅助生殖技术的医疗机构应当对实施人类辅助生殖技术的人员进行医学业务和伦理学知识的培训。

第二十条 卫生部指定卫生技术评估机构对开展人类辅助生殖技术的医疗机构进行技术质量监测和定期评估。技术评估的主要内容为人类辅助生殖技术的安全性、有效性、经济性和社会影响。监测结果和技术评估报告报医疗机构所在地的省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门和卫生部备案。

第四章 处 罚

第二十一条 违反本办法规定，未经批准擅自开展人类辅助生殖技术的非医疗机构，按照《医疗机构管理条例》第四十四条规定处罚；对有上述违法行为的医疗机构，按照《医疗机构管理条例》第四十七条和《医疗机构管理条例实施细则》第八十条的规定处罚。

第二十二条 开展人类辅助生殖技术的医疗机构违反本办法，有下列行为之一的，由省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门给予警告、3万元以下罚款，并给予有关责任人行政处分；构成犯罪的，依法追究刑事责任：

（一）买卖配子、合子、胚胎的；

（二）实施代孕技术的；

（三）使用不具有《人类精子库批准证书》机构提供的精子的；

（四）擅自进行性别选择的；

（五）实施人类辅助生殖技术档案不健全的；

（六）经指定技术评估机构检查技术质量不合格的；

（七）其他违反本办法规定的行为。

第五章 附 则

第二十三条 本办法颁布前已经开展人类辅助生殖技术的医疗机构，在本办法颁布后3个月内向所在地省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门提出申请，省、自治区、直辖市人民政府卫生行政部门和卫生部按照本办法审查，审查同意的，发给批准证书；审查不同意的，不得再开展人类辅助生殖技术服务。

第二十四条 本办法所称人类辅助生殖技术是指运用医学技术和方法对配子、合子、胚胎进行人工操作，以达到受孕目的的技术，分为人工授精和体外受精－胚胎移植技术及其各种衍生技术。

人工授精是指用人工方式将精液注入女性体内以取代性交途径使其妊娠的一种方法。根据精液来源不同，分为丈夫精液人工授精和供精人工授精。体外受精－胚胎移植技术及其各种衍生技术是指从女性体内取出卵子，在器皿内培养后，加入经技术处理的精子，待卵子受精后，继续培养，到形成早期胚胎时，再转移到子宫内着床，发育成胎儿直至分娩的技术。

第二十五条 本办法自2001年8月1日起实施。

参考文献

[1] 吴刚，伦玉兰. 中国优生科学 [M]. 北京：科学技术文献出版社，2000.

[2] 丁显平. 现代临床分子与细胞遗传学技术 [M]. 成都：四川大学出版社，2002.

[3] 李崇高，刘传弟，战立克. 简明临床遗传病手册 [M]. 北京：中国医药科技出版社，1991.

[4] 孟平，高锦声，陈忠. 优生优育实验诊断学 [M]. 北京：中国人口出版社，2000.

[5] 王培林. 遗传病学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2000.

[6] 陈赛娟，樊绮诗. 现代遗传学检验与临床实践 [M]. 上海：上海科学技术文献出版社，1999.

[7] 李美林. 人生科学与科学人生 [M]. 广州：广东人民出版社，2002.

[8] 陈竺. 医学遗传学 [M]. 北京：人民卫生出版社，2001.

[9] 杨抚华. 医学生物学 [M]. 3 版. 成都：四川科学技术出版社，1994.

[10] 王传友. 临床遗传疾病诊断手册 [M]. 北京：学苑出版社，1994.

[11] 孙开来. 人类发育与遗传学 [M]. 北京：科学出版社，2004.

[12] 王经伦，张德玮，高锦声. 性与生殖健康 [M]. 沈阳：辽宁科学技术出版社，2000.

[13] 邱维勤，周焕庚. 临床遗传学 [M]. 上海：上海医科大学出版社，1992.

[14] 刘权章. 遗传咨询　遗传病防治的关键问题 [M]. 哈尔滨：黑龙江科学技术出版社，1999.

[15] 杜传书. 医学遗传学基础 [M]. 2 版. 北京：人民卫生出版社，1997.

[16] 陈秀珍，左伋. 医学遗传学 [M]. 上海：上海医科大学出版社，1991.

[17] 王正询. 简明人类遗传学 [M]. 北京：高等教育出版社，2003.

[18] Benjamin Lewin. GENES VI Oxford Newyork Tokyo [M]. England: Oxford University Press, 1997.

[19] 李璞. 医学遗传学 [M]. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1999.

[20] 汪坊仁，薛绍明，柳惠图. 细胞生物学 [M]. 2 版. 北京：北京师范大学出版社，1998.

[21] Noguera N I, Tallano C E, Bragos I M, et al. Modified salting-out method for DNA isolation from newborn cord blood nucleated cells [J]. J Clin Lab Anal, 2000 (14): 280.

[22] Attal J, Cajero-Juarez M, Houdebine L M. A simple method of DNA extraction from whole tissues and blood using glass powder for detection of transgenic animals by PCR [J]. Transgenic Res, 1995 (4): 149.

[23] Grimaldi P, Scarponi C, Rossi P, et al. Analysis of Yq microdeletions in infertile

males by PCR and DNA hybridization techniques [J]. Molecular Human Reproduction, 1998 (4): 1116.
[24] Rasmussen R, Morrision T, Herrmann M&WC. Quantitative PCR by Continuous Fluorescence Monitoring of a Double Strand DNA Specific Binding Dye [J]. Biochemica, 1998 (2): 8.
[25] Lu R H, Hwang S J, Chan C Y. Quantitative measurement of serum HCV RNA in patients with chronic hepatitis C: comparison between Amplicor HCV monitor system and branched DNA signal amplification assay [J]. J Chin Lab Anal, 1998 (12): 121.
[26] Ross R S, Viazov S, Sarr S. Quantitative of hepatitis C virus RNA by third generation branched DNA - based signal amplification assay [J]. J Virol Methods, 2002 (101): 159.
[27] 向正华，刘厚奇. 核酸探针与原位杂交技术 [M]. 上海：第二军医大学出版社，2001.
[28] 王申五. 基因诊断技术 [M]. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1992.
[29] 林万明. 核酸探针杂交实验技术 [M]. 北京：中国科学技术出版社，1992.
[30] J. 萨布鲁克. 分子克隆实验指南 [M]. 3 版. 北京：科学出版社，2002.
[31] F. 奥斯伯. 精编分子生物学实验指南 [M]. 北京：科学出版社，1998.
[32] Hildebrandt F, Igarashi P. 分子医学技术 [M]. 林建银，章涛，林玲，等，译. 北京：科学出版社，2001.
[33] David L Spector, Robert D Goldman, Leslie A Leinwand. 细胞实验指南 [M]. 黄培堂，译. 北京：科学出版社，2001.
[34] 孙崇秀，宗卉. 比较基因组杂交近期应用及进展 [J]. 国外医学遗传学分册，2001，24 (2): 57-61.
[35] Gosden J, Lawos D. Instant PRINS: a rapid method for chromosome identification by detecting repeated sequences in situ [J]. Cytogenet Cell Genet, 1995 (68): 57-60.
[36] 胡福泉. 现代基因操作技术 [M]. 北京：人民军医出版社，2000.
[37] 黄荷凤. 现代辅助生殖技术 [M]. 北京：人民军医出版社，2009.
[38] 乐杰. 妇产科学 [M]. 7 版. 北京：人民卫生出版社，2008.
[39] 左伋. 医学遗传学 [M]. 5 版. 北京：人民卫生出版社，2008.
[40] 陆国辉，徐湘民. 临床遗传咨询 [M]. 北京：北京大学医学出版社，2007.
[41] 柳家英. 医学遗传学 [M]. 北京：北京医科大学出版社，2000.
[42] 郑晓瑛. 中国出生人口质量的现状与干预途径 [J]. 中国人口科学，2000 (6): 1-9.
[43] 宋新明. 中国出生缺陷预防策略的思考 [J]. 中国计划生育学杂志，2006 (10): 583-587.
[44] 郑晓瑛，宋新明，陈功. 提高出生人口素质的战略转变：从产前一围产保健到孕前一围孕保健 [J]. 中国计划生育学杂志，2005 (8): 452-456.
[45] 郑晓瑛. 实施出生缺陷干预战略的思考与建议 [J]. 中国计划生育学杂志，2001 (2): 77-80.
[46] 马明福，王应雄，丁显平，等. 出生缺陷预防与再生育 [M]. 成都：四川大学出版社，2010.